UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1954 — N° 380

UN NOUVEL ANTHELMINTHIQUE : LE THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 10 Décembre 1954

PAR

Jacques-Maurice-Germain JULES

PHARMACIEN

DIPLÔMÉ DES CERTIFICATS D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE PARASITOLOGIE GÉNÉRALE ET DE SÉROLOGIE

Né à Rochefort-sur-Mer (Charente-Maritime), le 17 Décembre 1928.

Examinateurs de la Thèse :

MM. SIGALAS, professeur ..... *Président*

VITTE, professeur.....

PAUTRIZEL, professeur ..... *Juges*

QUILICHINI, maître de conférences agrégé...

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

—

1954

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1954 — N° 380

UN NOUVEL ANTHELMINTHIQUE : LE THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 10 Décembre 1954

PAR

Jacques-Maurice-Germain JULES

PHARMACIEN

DIPLÔMÉ DES CERTIFICATS D'ÉTUDES SUPÉRIEURES DE PARASITOLOGIE GÉNÉRALE ET DE SÉROLOGIE

Né à Rochefort-sur-Mer (Charente-Maritime), le 17 Décembre 1928.

Examinateurs de la Thèse :

MM. SIGALAS, professeur ..... *Président*

VITTE, professeur.....

PAUTRIZEL, professeur..... .... *Juges*

QUILICHINI, maître de conférences agrégé...

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1954

FACULTÉ DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.
DOYEN : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	CREYX, BROUSTET
Clinique chirurgicale	PAPIN, MASSÉ
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE
Clinique gynécologique	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY
Anatomie	DUFOUR
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIÉCHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLÉE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	REBOUL
Chimie	MESNARD
Matière médicale	GOLSE
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants	FONTAN
Zoologie et parasitologie	SIGALAS

	MM.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	POUYANNE
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	F.-J.TRAISSAC
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DUBARRY

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Physiologie	Mlle ROUGIER
Bactériologie	MOUSTARDIER
Anatomie pathologique	LÉGER
Anatomie	RIGAUD
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE

	MM.
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER, QUILICHINI
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX
Biochimie médicale	NEUZIL
Pathologie expérimentale	FAURE

CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ :

M. STOLL (Histologie)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN, LENG-LÉVY, MORETTI, LAVIGNOLLE
Chirurgie générale	LAUMONIER, CHAVANNAZ, VILLAR, TINGAUD, DEPAULIS
Obstétrique	CHASTRUSSE, FAUGÈRE

	MM.
Ophtalmologie	BESSIÈRE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'ÉPÉE
Electro-radiologie	LACHAPÈLE
Odonto-stomatologie	BENOIT
Urologie	LANGE

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER
Accouchements	CHASTRUSSE
Puériculture	VERGER, PÉRY
Législation pharmaceutique	COUSTOU
Anatomie	CABANIÉ
Cryptogamie	LAUBIE

	MM.
Obstétricie sociale	MAHON
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER, VILLAR
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Physiologie	BENELLI

Le Secrétaire principal de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MA FEMME, A MES ENFANTS

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOS MAITRES
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543913_0012

AVANT-PROPOS

Nous ne voudrions pas commencer l'exposé de ce travail sans venir remercier ici tous ceux qui, par leur amabilité et leur compétence, nous ont permis de conduire à bonne fin les recherches et les expérimentations qui nous étaient nécessaires.

Les Laboratoires Midy, qui sont à l'origine de cette étude, ont toujours mis à notre disposition leurs immenses ressources. Nous les en remercions vivement.

Nos remerciements vont également à M. R. Canivenc, Assistant au Laboratoire d'Histologie, dont les connaissances nous ont été une aide précieuse, et à M. le Docteur Berlureau, Docteur-Vétérinaire, Directeur des Abattoirs de Bordeaux, qui nous a largement favorisé l'accès de ses établissements.

Nous remercions aussi M. le Docteur M. Traissac qui nous a permis de travailler dans son Service de l'Hôpital des Enfants, et M. le Docteur Arnou-Laujac, Directeur du Préventorium du Moutchic, dont l'amabilité jamais mise en défaut a grandement facilité notre tâche.

A M. J. Bailenger, Chef des Travaux Pratiques, chargé de cours, nous exprimons notre vive reconnaissance pour les précieux conseils et l'aide constante qu'il n'a pas cessé de nous prodiguer. Nous le remercions de n'avoir jamais hésité à nous consacrer son temps et sa peine pour nous guider judicieusement pendant toute la durée de ce travail.

Nous remercions chaleureusement M. le Professeur R. Pautrizel dont l'appui bienveillant et les avis éclairés nous ont été un encouragement constant.

Notre Maître, M. le Professeur Sigalas, qui nous a accueilli avec tant de bienveillance dans son Laboratoire et qui nous fait l'honneur de présider notre jury de thèse, a toujours manifesté le plus grand intérêt pour notre travail. Nous sommes heureux de lui exprimer notre profonde reconnaissance et notre respectueuse gratitude.

UN NOUVEL ANTHELMINTHIQUE :
LE THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE

INTRODUCTION

Le parasitisme intestinal par les Nématodes atteint une grande partie de la population du globe.

L'ascaridiose, par exemple, serait pour Stoll [54] l'helminthiase cosmopolite la plus répandue. D'après cet auteur, six cent quarante-quatre millions de personnes hébergent des Ascaris. En France, les cas d'ascaridiose sont également nombreux et la fréquence croissante de cette affection a été soulignée par Dumont [25], en 1950, au Congrès de l'Amibiase et des Parasitoses intestinales, à Châtelguyon.

Coutelen [16], pour la région du Nord, Sigalas, Pautrizel et Noguès [52], pour la région bordelaise, ont insisté, dans des statistiques très complètes, sur l'importance du parasitisme intestinal chez les enfants. Nous-même avons noté, sur cent un enfants examinés près de Bordeaux, soixante-cinq cas d'oxyurose et dix cas d'ascaridiose.

Les Trichocéphales se rencontrent également très souvent; le pourcentage d'individus parasités par ce Nématode atteint 25 à 50 % suivant les régions.

L'ankylostomose est répartie sur tous les continents, mais elle abonde surtout dans les régions tropicales. Dans les pays tempérés, elle est localisée et en rapport étroit avec certaines conditions de milieu (mines, briqueteries).

La strongyloïdose ne se rencontre en France que chez des anciens coloniaux. Elle peut, dans certains pays, atteindre une fréquence élevée : Becmeur, Lafferre et

Lamotte [6] notent dans le milieu indigène marocain 30 % d'individus infestés.

L'importance de ce parasitisme intestinal a des répercussions sur la thérapeutique où la variété des anthelminthiques est la meilleure preuve des échecs (dus à leur toxicité ou à leur inefficacité) enregistrés avec chacun d'eux.

L'attention est attirée depuis quelque temps par les sels de la pipérazine :

Le citrate de 1-diethyl-carbamyl-4-méthyl-pipérazine (Notézine), primitivement employé dans le traitement des filarioses où son activité est indéniable, est aussi un bon ascaricide, mais les accidents auxquels il donne lieu limitent son emploi, surtout chez les enfants;

Le diphénylacétate de pipérazine, étudié par Turpin, Cavier et Savaton-Pillet [59], semble avoir donné de bons résultats à ces auteurs dans le traitement de l'oxyurose et de l'ascaridiose.

Fayard [30] et Mouriquand [44] ont d'ailleurs reconnu à la pipérazine une activité incontestable contre les Oxyures et les Ascaris.

Il semblait donc logique d'orienter les recherches vers un dérivé de la pipérazine d'activité maximum et de toxicité négligeable. C'est dans ce but que les Laboratoires Midy ont préparé le thymolsulfonate de pipérazine, qui réalise l'association de deux corps doués, indépendamment l'un de l'autre, d'activité anthelminthique.

Dans ce travail, nous nous proposons d'étudier dans une première partie les différentes méthodes biologiques d'essais utilisées pour la vérification expérimentale de l'activité anthelminthique et de la toxicité. Dans une deuxième et une troisième partie, nous rapporterons les résultats de nos recherches personnelles sur le thymolsulfonate de pipérazine : étude expérimentale d'une part, observations cliniques d'autre part.

PREMIÈRE PARTIE

PHARMACOLOGIE
DES ANTHELMINTHIQUES ACTIFS
CONTRE LES NÉMATODES

Depuis plus d'un siècle, les chercheurs essaient d'apprécier la valeur anthelminthique de certaines substances. Des méthodes diverses et nombreuses sont proposées dans ce but. Elles se classent en deux catégories :

1° Essais *in vitro,* sur des vers isolés, en culture ou en survie;

2° Essais *in vivo,* sur le parasite au sein de son hôte.

Mais il ne suffit pas d'avoir estimé l'activité d'un produit, il faut aussi connaître sa toxicité. En effet, pour qu'un anthelminthique ait quelque valeur, il faut qu'il soit toxique pour le parasite, mais sans danger pour l'hôte. La détermination de la toxicité aiguë permet de calculer le coefficient chimiothérapique, c'est-à-dire de connaître la marge de sécurité qui existe entre la dose curative et la dose toxique.

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTHELMINTHIQUE

I. — ESSAIS *IN VITRO*

L'idéal serait d'expérimenter sur des parasites humains (Ascaris, Oxyures, par exemple), mais on ne peut se les procurer facilement en nombre suffisant et de façon régulière.

Devant cette difficulté, les chercheurs, se basant sur les parentés zoologiques reliant les différents groupes de vers, se sont adressés à plusieurs Annélides (vers de terre, sangsues), Plathelminthes et Némathelminthes. Ils ont comparé la sensibilité de ces récepteurs en faisant appel, soit à l'animal entier, soit à des segments de l'organisme, maintenus en survie.

Trendelenburg [57] utilise des fragments de muscle de ver de terre, *Lumbricus terrestris,* maintenus en survie, dont il enregistre graphiquement les contractions déterminées par la drogue en solution aqueuse. Le critère de l'activité est fourni par l'allure générale et le degré des contractions enregistrées, ou par le temps nécessaire pour amener la paralysie.

Schneider [51], dans son étude sur la santonine, publie une méthode s'adressant également au ver de terre, mais

entier et vivant. Il mesure le degré de contraction par le raccourcissement que subit le ver sous l'effet d'une solution de la drogue. Cette méthode, plus simple à mettre en œuvre que celle de Trendelenburg, serait aussi, d'après son auteur, plus précise.

Sollmann [53] emploie lui aussi des vers de terre intacts et vivants, qu'il plonge dans une solution de la substance à essayer. Puis il observe l'état des vers en expérience après une journée, et note s'ils sont tués, simplement déprimés ou normaux.

Plus récemment, en 1936, Jenkins et Lavan-Manchey [38] ont voulu remettre en valeur l'expérimentation *in vitro* sur les vers de terre par une méthode faisant appel aux vers entiers. Ils déterminent le temps pour lequel un vermicide est mortel, à une concentration donnée, sur un nombre déterminé de vers. Cette méthode, plus précise que la précédente par de nombreux points de technique, amène les auteurs à considérer un temps de survie « apparent » dont ils déduisent, par des calculs complexes, une « activité vermicide moléculaire ».

Signalons enfin la technique mise à profit par Straub [55] et Yagi [64] : ces auteurs injectent une solution de la substance aux vers de terre et observent leur comportement.

Crouy [17] utilise cette méthode, et aussi celle qui consiste à plonger les vers dans une solution du produit à essayer et à noter le temps de survie.

Quelques auteurs ont voulu étendre l'expérimentation sur les Annélides à la Sangsue, *Hirudo officinalis*.

Hinz et Silberstein [37], dans leurs travaux sur le thymol et la santonine, emploient un segment de muscle dorsal de sangsue, dépourvu de ganglions nerveux. Les contractions qu'il présente lorsqu'il est plongé dans une solution du produit actif sont traduites graphiquement sur un cylindre enregistreur.

Brücke et Sarkander [10], en 1940, utilisent, avec des

résultats satisfaisants, la Sangsue de deux façons différentes :

— Injection anale de 0,5 cm^3 de solution de la substance;

— Enregistrement graphique des contractions de préparations neuromusculaires ou de préparations musculaires dont tout ganglion nerveux a été éliminé.

En 1941, Oelkers et Rathje [45] emploient également la méthode d'enregistrement graphique appliquée à la Sangsue. Ils font ressortir les inconvénients déjà signalés par d'autres auteurs : une préparation musculaire de sangsue, dépourvue de ganglions nerveux, est plus lente à réagir à la plupart des anthelminthiques qu'une préparation de ver de terre. Mais si on utilise une préparation neuro-musculaire de sangsue, les résultats sont difficiles à lire du fait des contractions spontanées enregistrées dans le liquide de Ringer seul. Aussi, d'après ces auteurs, les préparations musculaires de ver de terre sont-elles d'interprétation plus facile.

L'emploi des Annélides présente certains avantages qui en ont fait pendant longtemps le matériel de choix pour les essais *in vitro* : en particulier, leur facilité d'approvisionnement, leur conservation au laboratoire pendant plusieurs mois et surtout leur grande sensibilité à de nombreuses substances. Cette sensibilité rendrait les méthodes utilisant les Annélides très précises, permettant d'employer de faibles concentrations du produit à essayer, en évitant ainsi l'émulsion de certaines substances peu solubles. Les vers de terre et les sangsues présentent enfin l'intérêt de n'être pratiquement pas sensibles aux variations physiques environnantes, telles que la température.

Mais ces quelques avantages ne doivent pas faire oublier la très grande différence de sensibilité qui existe entre les Annélides et les Nématodes vis-à-vis des substances toxiques.

Rebello, Gomes da Costa et Rico [48] montrent, par la méthode d'enregistrement graphique, que des segments de

vers de terre et des segments céphaliques d'Ascaris répondent différemment aux anthelminthiques. Gomes da Costa [32], reprenant cette étude comparée du mode de réaction des vers de terre et des Helminthes aux anthelminthiques usuels, conclut que les parasites intestinaux se montrent toujours beaucoup plus sensibles que les Annélides.

Lamson et Ward [41], après avoir étudié l'activité de cent vingt et une substances sur l'Ascaris du Porc et le ver de terre, n'ont pu noter aucune corrélation dans les réponses de ces vers.

Pour les uns, les Annélides sont donc plus sensibles à certaines substances; pour les autres, ce sont les helminthes qui réagissent le mieux.

De nombreuses raisons expliquent cette différence de sensibilité.

Les vers de terre et les Ascaris n'appartiennent pas au même embranchement zoologique. Leur morphologie et leur anatomie diffèrent essentiellement. C'est ainsi que les Nématodes sont recouverts d'une cuticule épaisse, résistante, chitinisée, alors que les Annélides en sont dépourvus. Le système neuromusculaire des deux groupes n'a pas la même organisation. Leur biologie est également différente. Alors que les Annélides ont une vie libre, à la température ordinaire, les Nématodes qui nous intéressent vivent en parasites à la température de 37°.

Il n'est donc pas étonnant que le parallélisme entre les réponses des deux groupes de vers n'existe en réalité que très rarement, et nous ne croyons pas qu'il soit possible de se baser sur la sensibilité des Annélides pour l'essai biologique d'un vermicide.

Crouy [17], qui a utilisé ces méthodes, conclut ainsi :

« Les essais sur les vers de terre *Lumbricus terrestris* et *Allolobophora terrestris* ne sauraient donc renseigner sur la valeur anthelminthique d'une substance, tout au moins dans les conditions mentionnées, puisqu'un vermifuge réputé actif, la santonine, s'est montré sans action. »

Si les Annélides ont été souvent utlisés comme matériel d'essai biologique des anthelminthiques, certains auteurs se sont également adressés aux Plathelminthes, et en particulier aux Cestodes.

En 1852, Kuchenmeister emploie le Ténia du Chien, *Tænia serrata* Goeze, 1782. Plus tard, Gomes [31] étudie l'action de l'écorce de grenadier sur les Ténias. Rebello, Gomes da Costa et Rico [48], en 1928, observent l'action de différents anthelminthiques comparativement sur les Cestodes, l'Ascaris et l'Ankylostome, par la méthode d'enregistrement graphique. Les Cestodes utilisés sont des parasites du Chien : *Dipylidium caninum* Linné, 1758, et *Tænia serrata*. Ces auteurs notent une très grande sensibilité des Cestodes à presque tous les tænifuges traditionnels qui sont inactifs sur les Ascaris et les Ankylostomes. En 1931, Gomes da Costa [32] confirme ces résultats en utilisant des anneaux isolés de plusieurs Ténias du Chien *(Dipylidium caninum, Tænia serrata, Tænia marginata)*.

La différence de sensibilité qui existe entre les Annélides et les Helminthes se retrouve donc à l'intérieur même de ce dernier groupe. C'est pourquoi Butz et Lalande [11] insistent sur la nécessité d'utiliser le parasite auquel l'anthelminthique est destiné, et pas un autre.

Ceci nous amène à considérer les méthodes d'essais employant les Némathelminthes. *Ce sont, en effet, les seules qui méritent d'être retenues pour l'étude d'un produit destiné à lutter contre les Nématodes intestinaux.*

Méthodes utilisant des Némathelminthes

L'emploi des Nématodes comme matériel d'étude des anthelminthiques a été préconisé par de nombreux auteurs et depuis fort longtemps, puisque dès 1852, Kuchenmeister s'adresse à l'Ascaris du Porc pour étudier l'activité de certains anthelminthiques. En 1885, von Schroeder [60] rapporte les résultats d'expériences qu'il pratique sur des

Ascaris du Porc entiers, exposés à l'action des drogues à essayer.

Depuis longtemps, les Nématodes utilisés dans ce but sont les Ascaris. Leur emploi se généralise à mesure que l'on démontre les différences profondes qui existent entre les Annélides et les Némathelminthes.

Puis les expérimentateurs s'adressent à d'autres Nématodes, et actuellement les essais *in vitro* sont aussi nombreux que variés.

Ascaris lumbricoides Linné, 1758

Les méthodes qui utilisent ce ver sont encore couramment employées de nos jours et il nous semble intéressant de les décrire rapidement.

En 1926, Rebello et Toscano-Rico [47] enregistrent les contractions d'un segment d'Ascaris du Porc pour estimer l'activité des anthelminthiques. Ils n'emploient pas indifféremment n'importe quelle partie du corps de l'Ascaris et distinguent : un segment antérieur portant la tête, un segment intermédiaire et un segment postérieur. En effet, chez l'Ascaris, les ganglions nerveux ne sont pas disséminés dans tout le corps, comme chez le ver de terre, mais localisés au niveau de l'anneau péri-œsophagien et de la région anale. On peut donc, par le choix judicieux d'un des trois segments, opérer soit sur une préparation comportant des éléments nerveux, soit sur une préparation qui en est totalement dépourvue.

Ces deux modalités présentent un réel intérêt dans l'étude du mode d'action d'une substance, pour savoir si elle agit uniquement sur le système musculaire ou à la fois sur le système musculaire et le système nerveux.

Gomes da Costa [32] utilise cette méthode en substituant au liquide de Ringer du liquide de Rhode-Saïto ajusté à *p*H 6,4. Cette modification a pour but de se rapprocher des conditions existant dans le milieu intestinal.

La méthode d'enregistrement graphique a été reprise et perfectionnée en 1943 par Baldwin [3], puis par Baldwin et Moyle [4, 5].

Baldwin utilise, pour conserver les Ascaris vivants, un milieu à base de NaCl, KCl, SO_4Mg, $CaCl_2$ et tamponné à *p*H 6,4. L'auteur enregistre les contractions de segments antérieurs et intermédiaires d'Ascaris du Porc, maintenus dans la solution à éprouver à 37° jusqu'à la paralysie.

En 1947, Baldwin et Moyle notent l'absence d'action, sur les segments d'Ascaris, de substances qui provoquent par contre une excitation des segments de vers de terre. Ils rapportent ce defaut d'activité à la présence de la cuticule et éliminent la possibilité de son intervention en prélevant des morceaux de muscles dorsaux d'Ascaris. Leur face externe seule étant protégée par un revêtement chitineux, cette technique met directement la musculature au contact de la drogue.

Dans les méthodes précédentes, l'emploi de l'Ascaris du Porc était basé sur l'enregistrement graphique des contractions de segments musculaires. Lamson et Brown [40], en 1936, préconisent l'utilisation des Ascaris entiers qu'ils maintiennent en survie dans de l'eau salée à 9 p. 1.000 à 37°5.

Le critère de l'activité anthelminthique repose sur le pourcentage de vers tués en différents temps dans des solutions de titre connu de la substance à essayer. Pour affirmer la mort des Ascaris, les auteurs se basent sur la disparition totale de leur motilité qu'ils apprécient de la façon suivante : les vers sont retirés de la solution, lavés à l'eau chaude courante pendant trente minutes, puis placés dans de l'eau physiologique à 37°5 pendant vingt heures. Chaque ver est ensuite plongé dans de l'eau à 60°. Les vers immobiles sont considérés comme morts.

Parascaris equorum (Gœze, 1782)

A côté de l'Ascaris du Porc, d'autres espèces d'Ascaris parasites des animaux sont employées. C'est ainsi qu'en 1928 Crouy [17] utilise l'Ascaris du Cheval pour apprécier l'activité de l'extrait de tanaisie. La méthode consiste à observer le temps de survie des Ascaris plongés dans une solution de l'extrait à 38°.

Ascaridia galli

Dernièrement, en 1952, Kerr et Cavett [39] ont repris les procédés d'enregistrement graphique, mais en utilisant des organismes vivants entiers. Ils s'adressent pour cela à l'*Ascaridia galli* dont la petite taille permet une telle expérimentation.

Les vers sont prélevés sur des Poulets parasités, et placés dans une solution de ClNa à 1 p. 100 à 37°, jusqu'à leur utilisation. Un enregistrement de leur activité normale est d'abord pris, puis on observe les mouvements et les contractions du ver sous l'influence de la drogue. Pour les auteurs, ce test a l'avantage, sur celui de Lamson et Brown, de permettre un enregistrement permanent de l'effet du composé sur le ver, tout en étant plus simple à mettre en œuvre que celui de Baldwin.

Strongyloides ratti

Arreaza-Guzman [1], dans une étude sur les traitements de la strongyloïdose, emploie pour ses essais *in vitro* le strongle du Rat : *Strongyloides ratti*. Les vers sont prélevés dans l'intestin de Rats parasités, lavés, répartis dans du liquide de Ringer stérile à l'étuve à 37°. On ajoute les médicaments, et on observe le temps de survie à la loupe.

Rhabditis macrocerca (Kreis et Faust, 1933)
et *Hæmonchus contortus* (Rudolphi, 1803)

Dans ses nombreux travaux sur les anthelminthiques, Deschiens [19, 20] met au point, pour ses essais *in vitro*,

deux tests s'adressant à des Nématodes. Ils sont d'une réalisation pratique et rapide et consistent à apprécier l'action d'une solution aqueuse à *p*H 7 du produit en expérience :

1° Sur une coproculture de *Rhabditis macrocerca,* Rhabditidé saprophyte isolé des selles du Lapin de garenne;

2° Sur les larves d'un Strongle commun de l'intestin du Mouton : *Hæmonchus contortus.*

Dans les deux tests, on note le temps de survie des vers en expérience.

Nippostrongylus muris (Yokogawa, 1920)

Cette méthode, préconisée par Rogers [50], peut, par sa réalisation pratique, servir de transition entre les essais *in vitro* et les essais *in vivo.* L'auteur pense, en effet, que les réactions des parasites, sous l'influence des drogues, doivent être étudiées dans un milieu semblable, par ses caractéristiques physico-chimiques, au milieu naturel d'habitat des vers. Dans ce but, Rogers perfuse la solution à essayer à travers une anse intestinale de Rat parasité par *Nippostrongylus muris.*

Les Rats sont parasités expérimentalement, puis tués à l'éther. Une portion de l'intestin grêle, particulièrement riche en parasites, est prélevée et maintenue en survie dans une solution de Tyrode glucosée à 38°. On y perfuse la solution anthelminthique pendant un temps donné. Après quoi, on recueille les parasites par râclage de la muqueuse, et on détermine le pourcentage des vers tués.

Discussion

Ce bref aperçu des principales méthodes d'essais biologiques *in vitro* des anthelminthiques montre que si le matériel vivant utilisé est varié, le principe même des essais se ramène à deux types :

— Observation des contractions de vers entiers ou segmentés;

— Temps de survie des vers au contact du produit à essayer.

Pour ce qui est du matériel utilisé, nous avons vu qu'il faut proscrire l'emploi des Annélides, et adapter le choix de l'Helminthe à la substance à étudier. Ainsi, un anthelminthique plus spécialement dirigé contre les Ascaris doit être, dans la mesure du possible, expérimenté sur des Nématodes et, parmi ceux-ci, on doit choisir l'Ascaris du Porc, très voisin de celui de l'Homme.

L'étude des contractions de la musculature des vers au contact d'une solution du produit fait généralement appel à des segments de vers, et la préparation des animaux est toujours délicate. Elle oblige à ligaturer aux deux extrémités la partie de l'Helminthe prélevée, obturant ainsi complètement le tube digestif, de sorte que les drogues ne peuvent pénétrer qu'à travers la cuticule. C'est ainsi que Baldwin [3] n'a obtenu aucune action du violet de gentiane par cette méthode. Si l'on veut éliminer la barrière cuticulaire, il faut opérer sur des préparations de muscle dorsal et, là encore, supprimer du même coup l'absorption par voie digestive. De plus, ces techniques ne permettent l'expérimentation que pour les drogues agissant sur le système neuro-musculaire et, par exemple, un anthelminthique du type enzyme protéolytique ne peut être étudié dans ces conditions. Dernier inconvénient, enfin, le matériel exigé est assez complexe.

Les techniques d'enregistrement graphique des contractions musculaires apporteraient des renseignements plus complets sur le mode d'action d'une substance. L'allure générale du graphique, le degré des contractions, une excitation ou une paralysie seraient autant de critères de l'activité anthelminthique. Il nous semble que ces réactions, surtout si elles sont données par des organismes fractionnés, révèlent plutôt une action de la drogue sur le système neuromusculaire, alors que l'activité anthelminthique peut se manifester d'une autre façon. Elles

présentent un intérêt, certes, mais plutôt dans une étude pharmacodynamique que pour définir l'activité d'un nouvel anthelminthique.

Le deuxième type d'essais *in vitro,* basé sur le temps de survie des vers au contact d'une solution du produit, nous semble mieux adapté à ce but. Il s'adresse, en effet, à des organismes entiers, vivants, et révèle une atteinte mortelle du ver en expérience, quelle qu'elle soit, et non pas seulement une action excitante ou paralysante sur un organe isolé. On a reproché à ces techniques de ne donner que peu de renseignements sur le mode d'action d'une substance, mais il nous semble cependant que l'observation d'une action léthale sur un ver en un temps donné est un critère suffisant de l'activité anthelminthique. Il existe, certes, une difficulté pour apprécier avec exactitude le moment où apparaît la mort, mais les différents auteurs ont mis au point des tests assez précis, basés soit simplement sur l'immobilisation des vers (Deschiens, Crouy, Arreaza-Guzman), soit sur leur colorabilité par l'éosine lorsqu'ils sont morts (Deschiens [21]), soit sur l'action de la chaleur (Lamson et Brown), soit sur l'action d'un courant électrique (Butz et Lalande). Enfin, la réalisation de ces méthodes est beaucoup plus simple, ne nécessite qu'un matériel restreint et aucune préparation spéciale des Helminthes que l'on doit seulement conserver au laboratoire.

En conclusion, quand il s'agit d'apprécier l'activité anthelminthique d'un nouveau produit, on peut employer des méthodes simples et rapides, comme celles de Deschiens ou de Lamson et Brown. Elles apportent au chercheur des indications suffisantes, lui permettant de savoir s'il doit ou non poursuivre l'étude de la substance *in vivo.* On utilisera plutôt les enregistrements graphiques pour préciser le mode d'action d'un produit sur tel ou tel organe.

Les essais « in vitro » ne peuvent être que des épreuves « pilotes » servant au triage des substances expérimentées.

Ils doivent posséder comme principales qualités, avec le choix judicieux de l'Helminthe, la simplicité et la rapidité.

II. — ESSAIS *IN VIVO*

Les essais *in vivo* se pratiquent à l'intérieur même de l'organisme parasité. Leur importance est capitale dans la détermination de l'activité d'une substance. En effet, certains produits, qui se révèlent actifs *in vitro* sur les vers, peuvent se montrer dénués de toute activité lorsqu'ils sont administrés à un animal parasité. Ou bien une substance, totalement ou partiellement inactive lors des essais *in vitro*, manifeste quelquefois une réelle activité chez l'animal parasité.

Ces faits ne sont pas étonnants si l'on considère l'importance que revêt le milieu intestinal : c'est là que se fait le contact entre le parasite et le médicament. Les caractéristiques physiques et chimiques du milieu intestinal peuvent agir de façon favorable ou défavorable sur l'anthelminthique et modifier son activité dans un sens ou dans l'autre. C'est ainsi que le *p*H, le *r*H, la présence de mucus, de sels biliaires jouent un rôle dans l'action d'un produit. Rogers [50], dans son étude sur l'activité anthelminthique de l'hexylrésorcine, constate que celle-ci est inactive *in vivo* chez le Rat parasité par *Nippostrongylus muris*, alors qu'elle se révélait active dans son essai *in vitro* qui tient pourtant compte, dans une large mesure, des conditions environnantes du milieu. Cette inactivation de l'hexylrésorcine *in vivo* proviendrait, selon l'auteur, d'une concentration en sels biliaires trop élevée dans l'intestin du Rat et d'une adsorption d'une partie de la drogue sur le mucus intestinal.

En outre, la thérapeutique peut modifier le milieu et le rendre impropre au parasitisme.

Pour toutes ces raisons, les essais « in vivo » sur l'animal parasité doivent nécessairement prendre place dans l'étude expérimentale d'un produit.

Erhardt [26], qui a fait une étude très complète des essais *in vivo,* situe le début de la chimiothérapie moderne des helminthiases en 1866, avec le travail de Carlblom [13], dans lequel, pour la première fois, l'action vermicide d'une drogue (extrait de fougère mâle) est démontrée expérimentalement sur l'animal parasité (Tænia du Chat). L'auteur observe, en même temps, que l'extrait de fougère mâle n'agit pas sur les Ascaris qui infestent également les Chats. C'est la démonstration expérimentale de la spécificité d'un vermifuge.

Puis, en 1921, Hall [34] montre que le tétrachlorure de carbone est spécifique de l'ankylostomose du Chien, et c'est alors seulement que les essais *in vivo* commencent à passer au premier plan.

Erhardt a dégagé de son travail les règles suivantes qui doivent être à la base de tout essai biologique sur l'animal parasité :

1° L'animal infesté doit être de préférence un Mammifère;

2° L'Helminthe responsable de la parasitose doit appartenir à la même espèce ou à deux espèces très voisines chez l'Homme et chez l'animal, et provoquer chez les deux hôtes des symptômes pathologiques semblables ou très peu différents. Il est important que l'infestation de l'animal soit forte, que les vers soient résistants et pas trop faciles à expulser. Ces conditions sont réalisées dans la plupart des helminthiases du Chat. Par contre, le Chien infesté serait un moins bon animal d'expérience, un simple changement de nourriture suffisant fréquemment pour expulser les vers;

3° L'activité pharmacologique doit être contrôlée quantitativement, soit par la numération des œufs ou des vers expulsés dans les selles, soit par la recherche des vers dans l'intestin après autopsie;

4° Le résultat final de l'essai pharmacologique doit être exprimé par le coefficient chimiothérapique : Rapport de la dose curative à la dose toxique.

Si, dans les essais *in vitro,* les critères d'activité de la drogue et les techniques employées sont variés, il n'en est pas ainsi pour les essais *in vivo* dont le schéma est toujours le même :

On prend un ou deux lots d'animaux dont on contrôle le parasitisme. Dans quelques techniques, son intensité est appréciée par la numération des œufs expulsés. Un des deux lots est alors traité avec le produit à essayer pendant un temps donné; le deuxième lot sert de témoin. A la fin du traitement, on estime l'activité anthelminthique par la numération des œufs dans les selles, sur le lot d'animaux traités et sur le lot témoin, ou mieux par le dénombrement des vers expulsés d'une part, des vers trouvés dans l'intestin après autopsie d'autre part, et l'on calcule le pourcentage de vers tués. On peut encore se baser sur le nombre d'animaux totalement déparasités, c'est-à-dire ne présentant plus après le traitement aucun ver vivant dans l'intestin.

L'infestation des animaux en expérience peut être naturelle ou expérimentale. La plupart des auteurs emploient des animaux infestés expérimentalement; quelques-uns seulement s'adressent à des animaux spontanément parasités (Deschiens [19, 20], Deschiens et Lamy [23], Thompson et Reinertson [56]).

L'administration du produit à l'animal peut se faire soit sous forme de pilules, si l'animal est assez gros (Chien, Chat, Lapin), soit en solution ou suspension par tubage gastrique ou injection rectale (Souris, Rat).

Selon ce schéma général, les essais *in vivo* s'adressent à des animaux parasités par des Nématodes, des Cestodes ou des Trématodes, et les expérimentateurs ont travaillé sur la plupart des helminthiases animales.

C'est ainsi que l'expérimentation des tænifuges est pratiquée sur des animaux parasités par des Cestodes. Nous nous bornerons à mentionner les suivants (Erhardt [26]) :

Tænia tæniæformis du Chat;

Dipylidium caninum du Chien;

Cittotænia ctenoides Railliet, 1890, du Lapin;

Hymenolepis nana, var. *fraterna* (von Siebold, 1852) du Rat et de la Souris (Deschiens);

Erhardt signale également l'emploi de la cysticercose du Lapin, due à *Cysticercus pisiformis* Zeder, 1803, pour apprécier l'activité d'un produit destiné à lutter contre les cysticercoses humaines.

Pour éprouver un médicament contre les distomatoses, Erhardt [26] s'adresse à l'opistorchiasis du Chat, due à *Opistorchis felineus* (Rivolta, 1884) Blanchard, 1895 (Trématodes). Faust et Meleney [29] expérimentent les produits contre les Bilharzies sur le Lapin infesté par *Schistosoma japonicum* Katsurada, 1904.

Nous allons maintenant considérer les méthodes qui font appel à des animaux parasités par des Nématodes, en les classant d'après la nature de l'Helminthe parasite. Ce sont celles qui offrent pour nous le plus grand intérêt.

Méthodes utilisant des Némathelminthes

Strongyloides ratti

Ce parasite du Rat est employé par Arreaza-Guzman [1], puis par Erhardt et Denecke [27] qui infestent expérimentalement les Rongeurs en les plongeant dans un bain renfermant des larves infestantes. Quand les Rats sont parasités, ils sont soumis au traitement anthelminthique dont on vérifie l'effet par le dénombrement des œufs éliminés, et par le nombre de vers trouvés à l'autopsie.

Nippostrongylus muris

Ce parasite, que l'on trouve spontanément chez le Rat, est utilisé par Whitlock [63] et par Rogers [50]. Brackett et Bliznick [9] l'emploient également pour déterminer chez la Souris une parasitose expérimentale, en infestant

les animaux par injection intrapéritonéale de larves cultivées à partir de crottes de Rats. L'activité de la drogue est étudiée en se basant sur la présence ou l'absence de vers dans l'intestin à l'autopsie.

Toxocara cati et *Trichuris leporis*

L'ascaridiose du Chat, due à *Toxocara cati (Ascaris cati* Schrank, 1788), et la trichocéphalose du Lapin, due à *Trichuris leporis,* sont utilisées par Erhardt [26] pour éprouver les produits destinés à lutter contre les Ascaris et les Trichocéphales. Les animaux sont infestés dans les deux cas par ingestion d'œufs embryonnés, et le contrôle des résultats est fait par autopsie.

Toxocara canis (Werner, 1782)

Hall et Foster [35], en 1917, Hewitt et ses collaborateurs [36], en 1948, font appel à l'ascaridiose du Chien pour étudier l'action ascaricide de certains anthelminthiques (huile de Chénopode, Notézine). Après le traitement, ils sacrifient l'animal et recherchent les Ascaris dans l'intestin.

Ankylostoma caninum (Ercolani, 1859)

C'est encore Erhardt [26] qui signale l'utilisation de l'ankylostomose du Chat pour étudier certains produits, plus spécialement dirigés contre les Ankylostomes. Les Chats sont infestés expérimentalement, et l'activité contrôlée par autopsie.

Passalurus ambiguus (Rudolphi, 1819)

Plusieurs auteurs se sont adressés à l'oxyurose du Lapin pour pratiquer des essais *in vivo :* Erhardt et Gieser [28], Deschiens et Lamy [23] contrôlent l'activité du produit par autopsie et recherche des Oxyures encore vivants.

Syphacia obvelata (Rudolphi, 1802) et *Aspicularis tetraptera* (Nitzsch, 1821)

Ces deux oxyuridés se rencontrent spontanément dans les élevages de Souris blanches, et leur utilisation dans les essais *in vivo* d'anthelminthiques est assez récente. Le test faisant appel à ces deux oxyuridés est couramment employé par Deschiens [19, 20], Wells [62], Thompson et Reinertson [56]. La technique en est décrite en détail dans la partie expérimentale (p. 39).

Trichinella spiralis (Owen, 1835)

Cette espèce, parasite de l'Homme, peut également provoquer une parasitose du Rat (Erhardt [26]). Les Rongeurs sont infestés expérimentalement, par absorption orale de muscles de Rats infestés de Trichines. Le contrôle des résultats se fait par la recherche des adultes dans l'intestin, ou des larves enkystées dans les muscles.

Conclusion

Le choix d'une méthode d'essai *in vivo* doit donc dépendre, dans la mesure du possible, de l'usage auquel est destiné le produit étudié. L'expérimentation sur l'animal de laboratoire parasité fournit alors des renseignements précis sur l'activité réelle du produit vis-à-vis des Helminthes parasites.

Mais une substance active *in vitro* et *in vivo* peut se révéler toxique pour l'hôte aux doses curatives et, de ce fait, inutilisable. C'est pourquoi l'étude de l'activité anthelminthique doit être complétée par celle de la toxicité.

CHAPITRE II

ÉTUDE DE LA TOXICITÉ

Elle se fait en deux temps, qui consistent en la détermination de la toxicité aiguë et de la toxicité chronique.

I. — TOXICITÉ AIGUË

Pour exprimer la toxicité aiguë, certains auteurs calculent la dose maxima tolérée. D'autres s'adressent à la plus petite quantité de substance tuant tous les animaux d'un groupe, c'est la dose minima toujours mortelle. Mais, actuellement, on emploie surtout la dose léthale moyenne (L. D. 50) (Trevan) qui tue 50 % des animaux en expérience. C'est, en effet, au voisinage de la L. D. 50 que l'accroissement du pourcentage des mortalités, en fonction d'une légère augmentation de dose, est le plus grand, et que les probabilités d'erreur de détermination sont les plus restreintes.

Citons, parmi les auteurs utilisant la dose minima mortelle, Deschiens [20] qui détermine la plus petite quantité tuant le Lapin en dix jours.

Turpin, Cavier et Savaton-Pillet [59] expriment la toxicité aiguë par la L. D. 50, calculée d'après la méthode de Behrens et Kaerber [7]. C'est cette méthode que nous

avons employée dans nos recherches. Elle consiste à administrer à des Souris blanches des doses croissantes du produit, s'étendant de la dose maxima tolérée à la dose minima toujours mortelle. On note le nombre d'animaux tués par chaque dose. A partir de ce principe, de nombreuses formules ont été proposées pour calculer la L. D. 50. Behrens et Kaerber préconisent la suivante :

$$Dm = Df - \frac{\Sigma (a \times b)}{m}$$

dans laquelle Dm = Dose mortelle médiane (L. D. 50) ;
Df = Dose toujours mortelle;
a = Moyenne de la somme des morts à deux doses successives;
b = Différence entre deux doses successives;
m = Nombre d'animaux utilisés pour chaque dose;
Σ = Somme.

Cette formule a l'avantage de toujours donner une valeur positive pour le nombre d'animaux morts à un intervalle de doses quelconque, puisque ce nombre résulte de la demi-somme des morts à deux doses successives. Il est donc positif, même si une dose plus forte entraîne moins de mortalités, qu'une dose plus faible (ce qui n'est pas le cas si l'on applique la formule proposée par Trevan, dans laquelle le nombre des morts est obtenu par différence).

Il est important, croyons-nous, de déterminer la toxicité aiguë sur l'espèce animale qui a servi à établir l'activité *in vivo*. En effet, la conclusion de l'étude expérimentale se traduit par le coefficient chimiothérapique, dose curative/dose toxique. Et rien ne prouve que la dose toxique déterminée pour une espèce animale serait la même chez une autre.

II. — TOXICITÉ CHRONIQUE

La détermination de la toxicité chronique, si elle n'est pas indispensable, offre cependant des renseignements intéressants sur la tolérance du produit étudié. C'est en effet le seul moyen de connaître les réactions générales de l'organisme soumis à un traitement de longue durée.

Cette étude se fait par l'administration prolongée du produit à un lot d'animaux, un autre lot identique servant de témoin. On suit les courbes de poids des deux lots d'animaux.

On peut compléter cette étude par le prélèvement des viscères (foie, rein, intestin) en fin de traitement, et leur examen histologique, ainsi que par l'établissement de la formule hémoleucocytaire et de la numération globulaire.

L'administration du produit, qui doit durer de quinze jours à un mois, peut se faire soit aux doses thérapeutiques, soit à des doses bien supérieures, doses de toxicité chronique.

Conclusions

La détermination de la toxicité aiguë et de la toxicité chronique est le complément indispensable à l'étude de l'activité *in vitro* et *in vivo*. La connaissance de la toxicité aiguë permet de déterminer le coefficient chimiothérapique du produit qui permettra de conclure aux qualités d'efficacité et d'inocuité que l'on exige d'un bon médicament.

C'est alors seulement que, la phase expérimentale étant terminée, peuvent commencer l'application thérapeutique et les observations cliniques qui sont en définitive les seuls critères des qualités de l'anthelminthique étudié.

Et encore faut-il observer que les résultats obtenus le sont en fonction d'une espèce animale déterminée, et ne nous donnent pas le droit de conclure qu'il en est de même chez l'Homme. Ce sont seulement des indications précieuses.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE

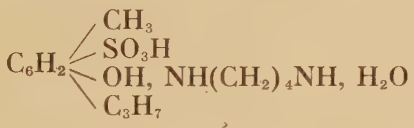
CHAPITRE PREMIER

LE THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE

Nos recherches ont porté sur le thymolsulfonate de pipérazine préparé par les Laboratoires Midy. C'est un produit synthétique résultant de la combinaison du thymol (sous forme d'acide thymolsulfonique) et de l'hydrate de pipérazine.

Il se présente sous l'aspect de cristaux blancs, brillants, non hygroscopiques, solubles dans l'eau.

Sa formule se schématise ainsi :



Ses principales constantes physico-chimiques qui nous ont été communiquées par les Laboratoires Midy sont les suivantes :

Poids moléculaire : 334;

Point de fusion : 148°;

Solution aqueuse au 1/10 : légèrement colorée en jaune;

Titre en pipérazine anhydre : 25,52 p. 100;

Humidité : 5,37 p. 100;

Chlore : traces tout à fait infimes;

Sulfates : néant;

Baryum : néant;

Métaux : néant.

Un des avantages du thymolsulfonate de pipérazine réside dans sa grande stabilité qui en fait un produit bien défini et toujours semblable à lui-même, de bonne conservation, alors que la pipérazine base est très hygroscopique.

CHAPITRE II

VALEUR ANTHELMINTHIQUE DU THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE

I. — DÉTERMINATION *IN VITRO*

La détermination de l'activité anthelminthique du T. S. P. [1] *in vitro* a été faite sur *Rhabditis macrocerca,* Nématode rhabditoïdé, saprophyte des matières fécales du Lapin de garenne, et sur *Ascaris lumbricoides,* Nématode ascaroïdé, parasite de l'intestin du Porc.

Essais sur « Rhabditis macrocerca »

Cette méthode, indiquée par Deschiens [19, 20], consiste à faire agir *in vitro* une solution du produit à essayer sur une coproculture de *Rhabditis macrocerca.*

1° *Culture.* — La souche de Rhabditidés est entretenue sur coprocultures en boîtes de Pétri stériles. On recueille des crottes de Lapin bien sèches, non souillées d'urine, et on les triture au mortier avec de l'eau distillée pour en former une pâte assez humide. On place cette préparation sous une épaisseur de 2 mm dans des boîtes de Pétri. On stérilise à l'autoclave à 120° pendant vingt minutes. On prélève, avec un ensemenceur stérile, une parcelle de

(1) Pour simplifier, le thymosulfonate de pipérazine sera désigné par les initiales T. S. P.

coproculture riche en *Rhabditis* que l'on porte au sein du milieu neuf.

Les *Rhabditis* se multiplient rapidement à la température du Laboratoire et, quinze jours après l'ensemencement, la coproculture est suffisamment riche pour que des prélèvements fournissent de nombreux vers.

Les repiquages sur des milieux neufs doivent avoir lieu environ toutes les deux à trois semaines.

2° *Prélèvement.* — Nos essais nécessitent un grand nombre de *Rhabditis macrocerca* isolés dans une phase liquide les conservant en vie et nous permettant de les mettre en contact avec une solution du produit à essayer.

Pour isoler les *Rhabditis* de la coproculture, nous avons utilisé trois méthodes :

a) Méthode de Deschiens [18]. — Avec un agitateur, on creuse au centre de la coproculture une cavité en forme de cône, atteignant le fond de la boîte. On dépose dans le cratère ainsi formé un filtre taillé aux dimensions voulues pour qu'une collerette se couche sur la coproculture. On y verse 2 à 3 cm^3 d'eau. Après trente minutes à une heure, en prélevant le liquide resté au fond du filtre, on y trouve des *Rhabditis.*

Cette méthode permet d'obtenir les vers dans un liquide totalement exempt de débris organiques, mais ne nous a pas toujours donné des *Rhabditis* en grande quantité. Nous avons donc le plus souvent opéré selon les deux techniques que nous avons mises au point :

b) Verser à la surface de la coproculture environ 5 à 10 cm^3 d'eau. Puis incliner la boîte de Pétri et recueillir au bout de vingt minutes l'eau qui se rassemble à la partie la plus basse. Elle contient de nombreux vers.

Cette méthode nécessite, si l'on veut conserver la coproculture, l'emploi d'eau stérile, et augmente l'humidité du milieu en risquant de ralentir ou d'arrêter la prolifération des *Rhabditis*.

c) Dans un troisième procédé, nous prélevons une parcelle de coproculture que nous diluons dans de l'eau distillée, de façon à obtenir un liquide clair, ne tenant en suspension que quelques débris organiques et dont une goutte, tombant de l'extrémité d'une pipette Pasteur, contient environ vingt à trente *Rhabditis*. Nous avons souvent utilisé ce mode de prélèvement qui permet de conserver la coproculture stérile pour les besoins ultérieurs.

3° *Epreuve*. — Elle consiste à mélanger une goutte de suspension de *Rhabditis* avec une goutte de la solution du produit en expérience, sur des lames à concavités maintenues en chambre humide à la température du laboratoire, et à noter le temps de survie.

Les essais sont toujours faits comparativement avec une lame témoin où la solution à essayer est remplacée par une goutte d'eau distillée. L'essai n'est valable que si les vers témoins ont conservé intacte, pendant la durée de l'expérience, toute leur vitalité. Une suspension de *Rhabditis* ainsi placée sur lame à concavités avec une égale quantité d'eau distillée a vécu dix jours.

Observés à la loupe, les vers, au contact de la solution active, ne montrent d'abord aucune atteinte : ils se déplacent rapidement en serpentant dans le liquide. Après un temps variable suivant l'activité du produit, leurs mouvements se ralentissent, mais restent les mêmes, puis leur amplitude diminue ainsi que la longueur des déplacements. Ils restent enfin sur place; les ondulations du corps sont remplacées par des soubresauts, le corps se raidit et le ver s'immobilise définitivement.

Les temps de survie observés avec des solutions de même titre varient légèrement d'un essai à l'autre, en fonction de plusieurs facteurs dont nous avons pu noter l'influence en multipliant nos essais :

— L'âge de la souche de *Rhabditis* : une coproculture ensemencée depuis moins de huit jours fournit des *Rhab-*

ditis jeunes, petits et moins résistants, de même qu'une préparation vieille de plus de quarante-cinq jours donne des vers moins vigoureux et plus sensibles aux produits actifs. Il semble que la meilleure période pour prélever les *Rhabditis* soit celle qui s'étend de quinze à trente jours après l'ensemencement. Ces chiffres ne sont d'ailleurs pas absolus et cette période optimum varie d'une culture à l'autre, suivant la consistance, le degré d'humidité et l'aération du milieu.

— La température influe sur la mobilité des *Rhabditis*. La température optimum pour laquelle les vers sont le plus mobiles est de 25°. En dessous de 18°, leurs mouvements se ralentissent, et à 37° les vers sont rapidement tués.

— Dans un même prélèvement sur une coproculture d'âge moyen, les individus traités par la même concentration d'un produit sur différentes lames ne meurent pas tous exactement dans le même temps. Il existe, en effet, des *Rhabditis* de toute taille et d'âge différent; les plus gros semblent les plus résistants.

C'est pourquoi nous avons tenu à multiplier largement nos essais pour obtenir des chiffres moyens reflétant le plus exactement possible la résistance générale des vers au produit essayé.

Compte tenu de tous ces facteurs, un essai isolé ne présente pas par lui-même une grande valeur. Il importe surtout de procéder à des essais comparatifs, effectués en même temps et dans les mêmes conditions, soit avec différentes dilutions d'un seul produit, soit avec des dilutions identiques de plusieurs substances.

On obtient ainsi des valeurs comparées de l'activité *in vitro*.

4° *Résultats.* — Nos essais sur *Rhabditis macrocerca* ont porté sur le T. S. P. et, comparativement, sur différents anthelminthiques réputés, tels que le thymol, l'hexylrésorcine, et sur des composés se rattachant soit au thymol, soit

à la pipérazine : thymolsulfonate de sodium, hydrate de pipérazine, citrate de 1-diéthyl-carbamyl-4-méthyl-pipérazine (Notézine).

Les résultats que nous avons obtenus sont réunis dans le tableau I (p. 36). Les temps notés représentent la moyenne des temps de survie obtenus au cours des différents essais.

Ces résultats montrent que le T. S. P. est doué d'une activité anthelminthique certaine *in vitro* sur *Rhabditis macrocerca*. Cette activité est de l'ordre de celle de l'hydrate de pipérazine. Le thymosulfonate de sodium est totalement inactif.

Essais sur « Ascaris lumbricoides »

Les résultats de l'expérimentation sur des Nématodes rhabditoïdés nous ayant montré que le T. S. P. était doué d'activité anthelminthique *in vitro,* il nous a semblé intéressant d'observer le comportement d'autres Nématodes en présence de T. S. P.

Nous nous sommes adressé à l'Ascaris du Porc qui est très voisin de celui de l'Homme, puisqu'il ne semble, d'après nos connaissances actuelles, n'en différer que par sa spécificité parasitaire vis-à-vis du Porc.

On peut le conserver en survie au laboratoire et c'est un matériel facile à se procurer.

1° *Prélèvement des Ascaris.* — Les Ascaris que nous employons pour nos essais proviennent des abattoirs de Bordeaux. Nous les transportons au laboratoire dans une solution de chlorure de sodium à 9 p. 1.000 préalablement chauffée aux environs de 38°. Le transport n'excédant pas dix minutes, les Ascaris n'ont pas le temps de se refroidir. On les lave ensuite plusieurs fois à l'eau tiède pour les débarrasser du mucus et des débris dont ils sont entourés, puis on les place dans un grand cristallisoir empli de solution de ClNa à 9 p. 1.000 et on les porte à l'étuve à 37°5. Après quatre heures, les Ascaris qui ne présentent aucun

Action sur les « Rhabditis Macrolaima », en présence de solutions de divers composés.

	1/40	1/100	1/200	1/500	1/1.000	1/2.000	1/5.000	1/10.000
T. S. P.	1 h. 40	2 h. 10	19 h. 45	41 h.	48 h. ou +	.....	.....	.....
Hydrate de pipérazine	40 mn	2 heures	18 h. 45	43 h.	+ de 48 h.	.....	.....	.....
Thymol	.....	.....	2 mn	.....	5 mn	15 mn	30 mn	.....
Thymolsulfonate de sodium	+ de 40 h.	+ de 48 h.	+ de 48 h.	+ de 48 h.	+ de 48 h.	.....	.....	.....
Citrate de 1 - diéthyl - carbamyl - 4 - méthyl - pipérazine (Notézine)	1 h. 50	2 h. 20	22 h.	+ de 72 h.	+ de 72 h.	.....	.....	.....
Hexylrésorcine	.....	.....	.....	.....	2 mn	5 mn	20 mn	1 h. 10

TABLEAU II

Temps de survie des Ascaris plongés dans différentes solutions des produits a essayer a 37°5.

	1/10	1/50	1/100	1/200	1/1.000
T. S. P.	3 heures	6 à 19 heures	28 heures	Plus de 48 heures	Plus de 48 heures
Hydrate de pipérazine	20 minutes	2 heures	6 heures	.....	.....
Thymolsulfonate de sodium	.....	48 heures	Plus de 48 heures	.....	.....
Notézine	.....	Plus de 48 heures	Plus de 48 heures	.....	Plus de 48 heures
Hexylrésorcine	.....	.....	.....	.....	5 minutes

mouvement sont rejetés et, seuls, sont conservés pour les essais ceux qui montrent une vitalité suffisante.

2° *Essai proprement dit.* — Comme dans les expériences précédentes, nous avons opéré comparativement avec des solutions de T. S. P. et d'autres produits, en particulier : hydrate de pipérazine, thymolsulfonate de sodium, Notézine, hexylrésorcine.

Nos essais ont d'abord consisté à plonger les Ascaris dans une solution du produit à essayer, additionnée de ClNa à la concentration de 9 p. 1.000, et à observer le temps de survie des vers en expérience à l'étuve à 37°5. Chaque expérience porte sur quatre Ascaris (en général des femelles de taille semblable), plongés dans 200 cm^3 de solution ou de suspension à éprouver. Les Ascaris sont considérés comme morts lorsqu'ils ne présentent plus aucun mouvement et tombent complètement inertes au fond du cristallisoir.

Les résultats que nous avons obtenus sont rassemblés dans le tableau II.

Devant les difficultés que nous avons rencontrées pour apprécier avec précision la mort des Ascaris, et les inconvénients de cette méthode qui nécessite une observation presque constante des vers en expérience, nous avons procédé à une deuxième série d'essais, nous permettant des comparaisons plus précises entre différents produits.

Nous utilisons alors une méthode inspirée de celle de Lamson et Brown [40] : les temps de contact des vers avec la solution à essayer sont fixes et l'on tient compte, comme critère d'activité, du pourcentage de morts.

Les Ascaris sont plongés dans une solution ou une suspension de titre connu du produit à essayer, additionné de ClNa à 9 p. 1.000, à 37°5. Après un temps déterminé, ils sont sortis de la solution et plongés un à un dans de l'eau à 40°. Les Ascaris vivants réagissent à cette élévation de température et présentent des mouvements bien définis.

Les Ascaris qui restent immobiles et flasques au fond du récipient d'eau chaude sont morts. Un essai témoin est fait en même temps avec la solution de ClNa à 9 p. 1.000.

Pour apprécier la vitalité des Ascaris, nous avons choisi la température de 40° qui est suffisante pour redonner des mouvements aux Ascaris vivants sans leur porter préjudice, et permet de les replonger dans la solution du produit actif pour déterminer le nouveau pourcentage de morts après un temps plus long.

Ces essais ont porté sur le T. S. P., sur la papaïne et sur l'association T. S. P.-papaïne (voir tableau V, p. 66).

Nous avons obtenu avec le T. S. P. à 1 p. 100 dans l'eau physiologique à 9 p. 1.000 : 51 % de morts en dix-neuf heures, 78 % de morts en vingt-huit heures.

Cette deuxième méthode paraît donc plus précise que la précédente puisque la concentration de 1 p. 100 de T. S. P., qui semble tuer tous les Ascaris en vingt-huit heures, si on se base sur leur immobilité à 37°5, n'en tue en réalité que 78 % quand on porte les vers dans de l'eau à 40° pour apprécier leur vitalité.

Conclusions

Le T. S. P. possède une activité anthelminthique *in vitro* sur *Rhabditis macrocerca* et sur *Ascaris lumbricoides*.

Mais ces expériences montrent bien la valeur toute relative qu'il faut attacher aux essais *in vitro*. En effet, si le T. S. P. se révèle actif sur les deux espèces de Nématodes, ainsi que la pipérazine, la Notézine par contre, ascaricide réputé, ne tue pas les Ascaris *in vitro* et même, aux concentrations de 1/50 et de 1/100, elle a une action excitante sur les vers qui montrent des mouvements plus amples et plus rapides que dans la solution de ClNa à 9 p. 1.000.

De plus, alors que dans l'essai sur *Rhabditis macrocerca* le T. S. P. et la pipérazine agissaient à peu près dans les

mêmes temps, la pipérazine se révèle plus active que le T. S. P. sur les Ascaris.

II. — DÉTERMINATION *IN VIVO*

Nous avons pu conclure, d'après les essais *in vitro,* que le T. S. P. possédait une certaine toxicité vis-à-vis de deux Nématodes.

Ces résultats nous ont permis d'envisager l'étude plus complète du T. S. P. sur l'animal de laboratoire parasité.

Parmi les tests *in vivo* que nous avons passés en revue, nous avons choisi la méthode de Deschiens [19, 20, 23] qui utilise la Souris blanche infestée spontanément par deux Oxyuridés : *Syphacia obvelata* ou *Aspicularis tetraptera.*

L'essai consiste à faire absorber à un lot de Souris parasitées une solution de titre connu du produit à essayer, soit par voie buccale, soit par voie rectale, et à constater par autopsie, après le traitement, l'absence ou la présence de parasites vivants dans l'intestin.

1° *Technique.* — Il est relativement facile de se procurer des Souris infestées par *Syphacia obvelata* ou *Aspicularis tetraptera.*

D'après Cavier [14], on trouve ordinairement dans les élevages 20 à 30 % d'animaux parasités. La fréquence de ce parasitisme varie largement d'un élevage à l'autre. Et si nous avons reçu des lots de Souris où l'infestation par ces deux espèces atteignait presque 50 %, il nous est arrivé d'examiner des groupes de cent Souris d'une même provenance sans rencontrer un seul œuf de Nématode.

Certains auteurs, en particulier Chan [15] et Wells [62], emploient l'infestation expérimentale, mais celle-ci paraît difficile à réaliser, comme le font remarquer Brackett et Bliznick [9]. Nous avons essayé d'infester expérimentalement des Souris neuves par ingestion d'œufs embryonnés

d'*Aspicularis tetraptera*, mais nous n'avons pu y réussir, sans doute à cause de la trop petite quantité d'œufs absorbés, un certain nombre étant détruits dans l'estomac des Souris. Nous nous sommes toujours adressé, dans nos essais, à des Souris spontanément parasitées. La présence des Oxyuridés est décelée par la recherche microscopique des œufs dans les selles.

Dans les nombreux travaux qu'il a faits sur les anthelminthiques, Deschiens a surtout employé dans ses essais *in vivo* la voie d'administration rectale, et moins souvent la voie œsophagienne. Il nous semble plus logique d'adopter cette dernière. En effet, les anthelminthiques sont généralement administrés chez l'Homme par la bouche, *et il est normal de se rapprocher le plus possible, dans l'expérimentation, des conditions où l'on se trouve en thérapeutique humaine.* Ceci n'exclut pas, d'ailleurs, la possibilité d'expérimenter le produit étudié par injection rectale également. On peut ainsi se rendre compte s'il existe des différences d'activité résultant du mode d'administration.

Dans nos expériences, le T. S. P. est administré en solution dans l'eau, soit par tubage gastrique, soit par injection rectale.

Tubage gastrique. — Nous adoptons la technique de Ward Ferrili [61], facile à mettre en œuvre et qui nous donne pleinement satisfaction.

Sur une seringue de 2 cm^3 ordinaire est montée une aiguille à injection de 6 cm, 13/10, à l'extrémité de laquelle a été soudée une petite olive en maillechort de 1,5 à 2 mm de diamètre, percée d'un orifice prolongeant celui de l'aiguille. Cette olive est très finement polie pour éviter toute irritation de l'œsophage et du cardia.

L'animal est tenu de la main gauche, la tête en extension, légèrement en arrière; l'aiguille est alors introduite dans la bouche, l'œsophage, puis l'estomac (il est nécessaire de pousser l'aiguille jusque dans l'estomac car, si le liquide

est expulsé de la seringue au niveau de l'œsophage, l'animal risque de le rejeter). Le volume optimum à faire ingérer est de 0,5 à 1,2 cm^3.

Injection rectale. — Nous utilisons le même montage. L'aiguille est introduite lentement par l'anus dans le rectum. Il arrive que la Souris rejette une partie de la solution administrée au moment où l'aiguille est retirée de l'anus.

Après avoir expérimenté les deux modes d'administration, le tubage gastrique nous a paru préférable, car plus précis, les animaux traités gardant bien toute la solution ingérée.

Les Souris en expérience sont traitées pendant des périodes allant de deux à onze jours. Pendant la durée du traitement, l'élimination des œufs d'Oxyures est régulièrement observée tous les jours. Quand l'examen coprologique est négatif, les Souris sont autopsiées pour rechercher les Oxyuridés dans l'intestin. Nous prélevons le gros intestin et le cæcum en entier. L'examen doit porter sur ces deux parties du tube digestif et pas seulement sur le cæcum. Thompson et Reinertson [56] signalent, en effet, que si les deux Oxyuridés apparaissent dans le cæcum et le gros intestin, *Syphacia obvelata* a tendance à se manifester dans le cæcum et *Aspicularis tetraptera* se rencontre plus souvent dans le gros intestin.

Les parties de l'intestin prélevées sont alors fendues longitudinalement et la muqueuse est soigneusement raclée et lavée plusieurs fois avec de l'eau physiologique à 37°, pour bien en séparer les vers s'il y en a. Les débris intestinaux ainsi obtenus sont dilacérés dans un verre de montre avec de l'eau physiologique à 37°. On peut procéder à un premier examen à l'œil nu, le verre de montre étant placé au-dessus d'une source lumineuse; les vers mobiles se voient par transparence. Ce procédé rapide peut être utilisé quand les parasites sont nombreux, mais il ne permet pas

de caractériser le ver observé. Il convient de le compléter par une deuxième recherche à la loupe, en séparant sous l'objectif les différents débris organiques en suspension. On peut ainsi mettre en évidence les vers ayant échappé à l'observation à l'œil nu. Enfin, pour une caractérisation des espèces en cause, il est nécessaire d'examiner le parasite sur lame, au microscope.

Le test *in vivo* est positif s'il n'est trouvé à l'autopsie aucun Oxyuridé vivant dans l'intestin. Quelquefois on peut trouver des parasites tués qui n'ont pas eu le temps d'être éliminés avec les matières fécales. Ces vers sont immobiles et raides. Mais, le plus souvent une bonne activité du produit administré se traduit par une absence totale de parasites, morts ou vivants.

2° *Résultats.* — Nos essais *in vivo* sur les Oxyuridés de la Souris ont porté sur le T. S. P. et, comparativement, sur l'hydrate de pipérazine et la Notézine. Nous avons réuni dans le tableau III les résultats obtenus avec ces différents composés.

Les essais n^{os} 1, 2, 3, 4, 5, 6 montrent que la dose curative de T. S. P. est comprise entre 12 et 24 mg par Souris de 20 g, la dose optimum paraissant être 16 mg, soit 0,20 g par kilogramme et par jour pendant quatre jours.

Les différents essais avec la dose totale de 12 mg, établie sur une longueur de temps variable, ne nous ont jamais permis d'obtenir la déparasitation totale des Souris. De même, l'administration rectale de 12 mg de T. S. P. par Souris (essai n° 8) ne déparasite pas toutes les Souris en expérience. Par contre, la dose de 16 mg nous donne toujours 100 % de déparasitation, quelles que soient la durée du traitement et la répartition des prises quotidiennes.

Pour l'hydrate de pipérazine, les essais n^{os} 9, 10, 11 montrent que la dose active est de 8,8 mg par Souris, soit 0,11 g par kilogramme et par jour pendant quatre jours. La dose de 6 mg se révèle trop faible (essai n° 12).

Essai n°	Nombre de Souris	Dose quotidienne par Souris de 20 g	Nombre de prises quotidiennes	Durée du traitement	Dose par kg et par jour	Dose totale administrée	Nombre de Souris déparasitées	Pourcentage de déparasitation
				T. S. P. (tubage gastrique)				
1	5	12 mg	4	2 jours	0,60 g	24 mg	5	100 %
2 et 3	5 + 5	4 mg	1	4 jours	0,20 g	16 mg	5 + 5	100 %
4	5	6 mg	4	2 jours	0,30 g	12 mg	4	80 %
5	8	3 mg	1	4 jours	0,15 g	12 mg	7	87 %
6	5	8 mg	4	2 jours	0,40 g	16 mg	5	100 %
				T. S. P. (injection rectale)				
7	5	3 mg	1	7 jours	0,15 g	21 mg	5	100 %
8	5	3 mg	1	4 jours	0,15 g	12 mg	3	60 %
				Pipérazine (tubage gastrique)				
9 et 10	10 + 6	4 mg	1	4 jours	0,20 g	16 » mg	10 + 6	100 %
11	5	2,2 mg	1	4 jours	0,11 g	8,8 mg	5	100 %
12	5	1,5 mg	1	4 jours	0,075 g	6 » mg	3	60 %
				Notézine (tubage gastrique)				
13	3	0,4 mg 0,8 mg	1	6 jours 5 jours	0,020 g 0,040 g	6,4 mg	0	0 %
14	3	1 mg	1	11 jours	0,05 g	11 » mg	0	0 %
15	3	4 mg	1	10 jours	0,20 g	40 » mg	0	0 %
16	2	8 mg	1	2 jours	0,40 g	16 » mg	Toxique	0 %

Hewitt et ses collaborateurs [36] ayant observé une activité maximum de la Notézine sur les Ascaris du Chien à des doses de 25 à 50 mg par kilogramme, notre premier essai sur les Oxyuridés de la Souris a été pratiqué à raison de 20 mg par kilogramme et par jour, en suivant l'élimination des œufs (essai n° 13). Puis nous avons augmenté cette dose jusqu'à 200 mg par kilogramme et par jour pendant dix jours sans obtenir de résultat. Des quantités plus importantes de Notézine sont toxiques pour la Souris et nous n'avons pu continuer l'expérimentation. Ces expériences sur l'animal de laboratoire confirment les observations de Loughlin et ses collaborateurs [42] qui n'ont obtenu chez l'Homme aucune action de la Notézine sur les Oxyures.

Il est intéressant de noter que nous avons traité certaines Souris qui présentaient un parasitisme double à Oxyuridés et à *Hymenolepis nana* var. *fraterna* (Cestodes). Les *Hymenolepis* trouvés à l'autopsie sont toujours vivants, tant avec le T. S. P. que la pipérazine ou la Notézine, et quelles que soient les doses utilisées.

Nous pouvons conclure de ces essais *in vivo* que le T. S. P. est actif sur sur les Oxyuridés de la Souris à la dose de 0,20 g. par kilogramme et par jour pendant quatre jours, l'hydrate de pipérazine à la dose de 0,11 g par kilogramme et par jour pendant quatre jours, alors que la Notézine se révèle totalement inactive sur ces Nématodes.

CHAPITRE III

TOXICITÉ DU THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE

Le T. S. P. présentant une activité anthelminthique certaine sur les Oxyuridés de la Souris, nous devions alors nous assurer de son inocuité sur l'hôte parasité et nous avons choisi pour étudier sa toxicité l'animal qui nous avait déjà permis d'étudier son activité : la Souris blanche.

Dans ce chapitre, nous envisagerons successivement la toxicité aiguë, puis la toxicité chronique du T. S. P. et, comparativement, nous ferons l'étude de la pipérazine et de la Notézine.

I. — TOXICITÉ AIGUË

Parmi les méthodes employées, nous nous sommes adressé à celle de Behrens et Kaerber [7, 8] qui donne, avec assez de précision, la dose mortelle médiane L. D. 50.

1° *Technique.* — La méthode de Behrens et Kaerber consiste à faire absorber par voie buccale à des Souris blanches des doses variables du produit dont on veut étudier la toxicité. Ces doses doivent s'étendre entre la dose maxima tolérée et la dose tuant toutes les Souris en expérience.

Dans des essais préliminaires portant sur un petit nombre d'animaux, nous déterminons la dose léthale moyenne approximative, la dose maxima tolérée et la dose minima mortelle pour toutes les Souris. Quand on a déterminé approximativement la dose léthale moyenne, on divise les animaux en groupes de dix et on leur fait absorber des doses croissantes et décroissantes encadrant la L. D. 50 supposée, jusqu'à atteindre la dose maxima tolérée et la dose mortelle pour toutes les Souris. On applique ensuite la formule de Behrens et Kaerber qui donne la L. D. 50 :

$$Dm = Df - \frac{\Sigma (a \times b)}{m}.$$

Dans tous nos essais, les substances à éprouver sont absorbées en solution aqueuse par tubage gastrique. Pour calculer la quantité de solution à faire absorber à chaque Souris, nous ne nous sommes pas basé sur le poids moyen d'une Souris (20 g), mais nous avons tenu compte du poids réel de chaque animal pesé immédiatement avant l'essai. Par exemple, une dose de 5 g par kilogramme est représentée par 1 cm³ de solution à 10 p. 100 pour une Souris de 20 g, mais par 1,1 cm³ de la même solution pour une Souris de 22 g, 1,2 cm³ pour une Souris de 24 g, etc. Une dose de 1 cm³ de solution à 10 p. 100 pour une Souris de 24 g ne correspond, en effet, qu'à 4,20 g par kilogramme, d'où l'importance du poids de chaque Souris en expérience.

Pour les essais de toxicité du T. S. P., nous avons été obligé d'opérer à de très fortes concentrations (26 à 46 p. 100) et les solutions ont été obtenues à chaud et administrées aux Souris à la température de 35 à 37°, le T. S. P. cristallisant rapidement à froid dans de telles solutions.

2° *Détermination de la L. D. 50 du T. S. P. :*

Doses en g par kilogramme d'animal....	13	15	17	19	21	23
Différence entre deux doses successives : b		2	2	2	2	2
Nombre d'animaux traités : m	10	10	10	10	10	10
Nombre de morts	0	2	4	7	6	10
Moyenne de la somme des morts à deux doses successives : a		1	3	5,5	6,5	8
× b		2	6	11	13	16

Dose toujours mortelle : 23 g par kilogramme = Df.

La dose médiane Dm tuant 50 % des animaux est calculée de la manière suivante :

$$Dm = Df - \frac{\Sigma (a \times b)}{m}.$$

$$Dm = 23 - \frac{48}{10} = 23 - 4{,}8 = 18{,}2.$$

Dm = 18,20 g par kilogramme.

3° *Détermination de la L. D. 50 de l'hydrate de pipérazine :*

oses en g par kilogramme d'animal....	5	5,5	6	6,5	7	7,5
ifférence entre deux doses successives : b		0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
ombre d'animaux utilisés : m	10	10	10	10	10	10
ombre de morts	0	3	6	6	7	10
oyenne de la somme des morts à deux doses successives : a		1,5	4,5	6	6,5	8,5
× b		0,75	2,25	3	3,25	4,25

Dose toujours mortelle : 7,5 g par kilogramme = Df.

$$Dm = 7{,}5 - \frac{13{,}5}{10} = 7{,}5 - 1{,}35 = 6{,}15.$$

Dm = 6,15 g par kilogramme.

4° *Détermination de la L. D. 50 de la Notézine :*

oses en g par kilogramme d'animal....	0,5	0,75	1	1,5	2	2,25
ifférence entre deux doses successives : b		0,25	0,25	0,5	0,5	0,25
ombre d'animaux utilisés : m	10	10	10	10	10	10
ombre de morts	0	2	5	7	8	10
oyenne de la somme des morts à deux doses successives : a		1	3,5	6	7,5	9
× b		0,25	0,875	3	3,75	2,25

Dose toujours mortelle : 2,25 g par kilogramme = Df.

$$Dm = 2{,}25 - \frac{10{,}125}{10} = 2{,}25 - 1{,}012 = 1{,}24.$$

Dm = 1,24 g par kilogramme.

En résumé, la L. D. 50 pour la Souris est de 18,20 g par kilogramme pour le T. S. P., de 6,15 g par kilogramme pour l'hydrate de pipérazine et de 1,24 g par kilogramme pour la Notézine.

II. — TOXICITÉ CHRONIQUE

Si la connaissance de la toxicité aiguë présente un intérêt direct pour la détermination du coefficient chimiothérapique, il n'en est pas moins utile d'étudier l'action du T. S. P. sur l'organisme vivant, lorsqu'il est administré pendant une longue période, à des doses apparemment non toxiques.

Nous avons choisi comme animal d'expérience la Souris blanche et, comme critère de la tolérance du produit, les courbes de poids présentées par un lot d'animaux traités, comparativement avec un lot de Souris témoins, l'étude histologique de coupes d'organes prélevés après autopsie et l'étude de la formule sanguine.

Etude des courbes de poids

Nous avons procédé à deux séries d'expériences.

Un premier essai consiste à traiter pendant un mois, à raison de 1 g par kilogramme et par jour, des Souris jeunes, n'ayant pas encore atteint le poids moyen d'une Souris adulte, et à observer régulièrement leur courbe de poids.

Un deuxième essai porte sur des Souris adultes traitées à raison de 2 g par kilogramme et par jour pendant un mois.

Dans ces deux séries d'essais, nous opérons sur trois lots de Souris :

— Un lot traité par le T. S. P.;
— Un lot traité par l'hydrate de pipérazine;
— Un lot de Souris témoins.

Les Souris traitées reçoivent le produit en solution par tubage gastrique. Elles sont pesées avant le début du traitement, puis régulièrement toutes les semaines.

1° *Essai sur des Souris jeunes :*

Lot n° 1 : dix Souris témoins.

Le 13-1-53	Poids : 20, 22, 15, 14, 16, 13, 15, 17, 15, 13 g	Poids moyen : *16* g
20-1-53	— : 17, 16, 17, 16, 21, 21, 18, 17, 15, 13 g	— — : 17,10 g
27-1-53	— : 18, 15, 12, 19, 16, 20, 18, 22, 16, 15 g	— — : 17,10 g
3-2-53	— : 17, 15, 21, 18, 16, 16, 14, 19, 18, 15 g	— — : 16,90 g
10-2-53	— : 13, 17, 14, 16, 17, 18, 20, 22, 15, 14 g	— — : 16,60 g
14-2-53	— : 18, 13, 18, 16, 16, 16, 23, 19, 21, 16 g	— — : *17,60* g
18-2-53	— : 17, 14, 21, 18, 15, 18, 18, 19, 16, 22 g	— — : 17,80 g
26-2-53	— : 18, 15, 15, 22, 22, 19, 20, 18, 19, 16 g	— — : 18,40 g

Poids moyen au début du traitement : 16 g.
Poids moyen après trente-deux jours : 17,60 g.

Soit une augmentation de poids de 10 %.

Lot n° 2 : dix Souris reçoivent 1 g par kilogramme et par jour de T. S. P. soit, pour une Souris de 16 g, 0,4 cm³ de solution à 4 p. 100.

Le 13-1-53	Poids : 14, 22, 13, 14, 20, 15, 14, 13, 13, 16 g	Poids moyen : *15,40* g
20-1-53	— : 16, 14, 23, 21, 14, 15, 14, 17, 17, 14 g	— — : 16,50 g
27-1-53	— : 15, 24, 16, 16, 19, 22, 16, 18, 18, 14 g	— — : 17,80 g
3-2-53	— : 16, 15, 19, 15, 18, 22, 14, 23, 19, 15 g	— — : 17,60 g
10-2-53	— : 23, 18, 20, 14, 13, 14, 19, 18, 15, 16 g	— — : 17 g
t du ment 14-2-53	— : 22, 15, 24, 15, 14, 19, 18, 18, 16, 14 g	— — : *17,50* g
18-2-53	— : 23, 22, 17, 16, 16, 19, 18, 16, 18, 11 g	— — : 17,60 g
26-2-53	— : 15, 10, 22, 19, 24, 15, 17, 18, 20, 19 g	— — : 17,90 g

Poids moyen au début du traitement : 15,40 g.
Poids moyen après trente-deux jours : 17,50 g.

Soit une augmentation de poids de 13,6 %.

Lot n° 3 : dix Souris reçoivent, comme ci-dessus, 1 g par kilogramme et par jour d'hydrate de pipérazine (trois Souris sont mortes la première semaine).

Le 13-1-53	Poids : 21, 13, 18, 18, 13, 12, 15, 18, 14, 14 g	Poids moyen :	*15,60* g
20-1-53	— : 19, 17, 13, 12, 15, 18, 17 g	—	—	: 15,80 g
27-1-53	— : 15, 21, 19, 14, 13, 17, 18 g	—	—	: 16,70 g
3-2-53	— : 20, 16, 15, 17, 13, 11, 15 g	—	—	: 15,30 g
10-2-53	— : 15, 17, 15, 13, 13, 14, 16 g	—	—	: 14,70 g
du 14-2-53	— : 17, 13, 14, 16, 19, 15, 18 g	—	—	: *16* g
ent 18-2-53	— : 14, 17, 15, 14, 17, 19, 18 g	—	—	: 16,20 g
26-2-53	— : 14, 13, 15, 16, 17, 20, 21 g	—	—	: 16,60 g

Poids moyen au début du traitement : 15,60 g.
Poids moyen après trente-deux jours : 16 g.
Soit une augmentation de poids de 2,5 %.

A ces résultats correspondent les trois courbes ci-contre (courbe 1, p. 51).

Ces expériences montrent une courbe de croissance normale pour les Souris témoins et celles traitées par le T. S. P., alors que l'augmentation de poids est fortement réduite (2,5 % seulement au lieu de 13,6 %) pour les Souris traitées par l'hydrate de pipérazine.

2° *Essai sur des Souris adultes :*

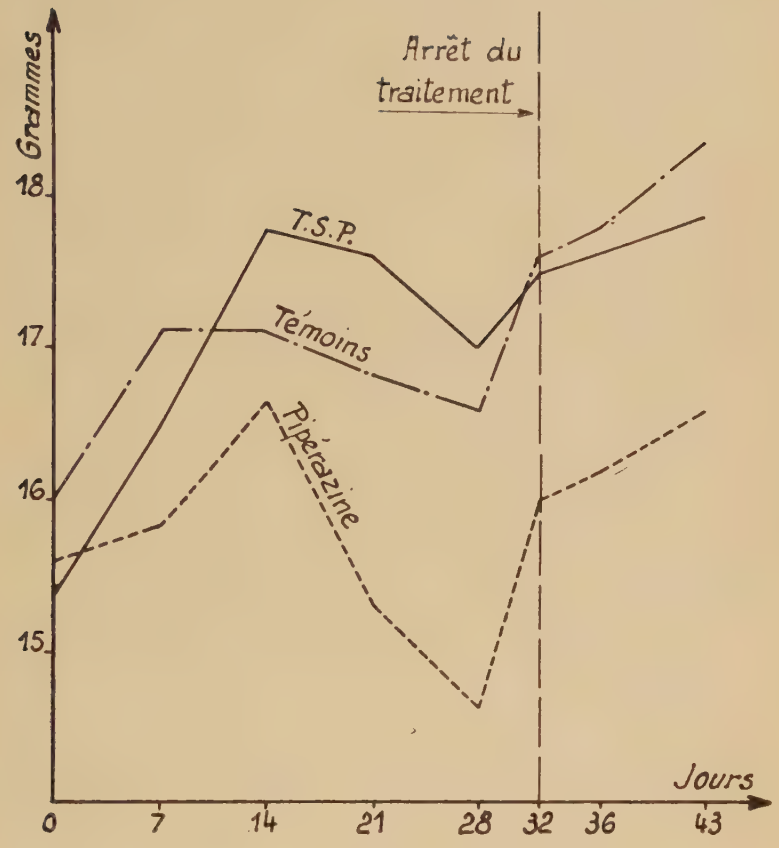
Lot n° 4 : cinq Souris témoins.

Le 2-2-53	Poids : 18, 20, 22, 21, 21 g	Poids moyen :	*20,40* g
10-2-53	— : 19, 20, 22, 15, 20 g	—	—	: 19,20 g
18-2-53	— : 22, 19, 19, 19, 14 g	—	—	: 18,60 g
25-2-53	— : 19, 21, 19, 19, 14 g	—	—	: 18,40 g
3-3-53	— : 21, 19, 20, 13, 21 g	—	—	: *18,80* g

Poids moyen au début du traitement : 20,40 g.
Poids moyen après vingt-neuf jours : 18,80 g.
Soit une diminution de poids de 7,8 %.

Lot n° 5 : cinq Souris reçoivent 2 g par kilogramme et par jour de T. S. P., soit, pour une Souris de 20 g, deux prises de 0,5 cm^3 de solution à 4 p. 100.

Le 2-2-53	Poids : 16, 20, 20, 23, 21 g	Poids moyen :	*20* g
10-2-53	— : 19, 21, 22, 16, 21 g	—	—	: 19,80 g



Courbe 1.

Courbes de variations pondérales de Souris jeunes traitées par le T. S. P. et par la pipérazine (1 g par kg et par jour).

Le 18-2-53	Poids : 21, 17, 20, 20, 14 g	Poids moyen :	18,40 g
25-2-53	— : 19, 20, 17, 21, 13 g	— — :	18 g
3-3-53	— : 22, 13, 20, 16, 21 g	— — :	*18,40* g

Poids moyen au début du traitement : 20 g.

Poids moyen après vingt-neuf jours : 18,40 g.

Soit une diminution de poids de 8 %.

Lot n° 6 : cinq Souris reçoivent, comme ci-dessus, 2 g par kilogramme et par jour d'hydrate de pipérazine.

Le 2-2-53	Poids : 17, 20, 18, 23, 22 g	Poids moyen :	*20* g
10-2-53	— : 16, 13, 15, 18, 19 g	— — :	16,20 g
18-2-53	— : 15, 19, 14, 15, 19 g	— — :	16,40 g
25-2-53	— : 21, 15, 13, 15, 17 g	— — :	16,20 g
3-3-53	— : 15, 17, 16, 13, 20 g	— — :	*16,20* g

Poids moyen au début du traitement : 20 g.

Poids moyen après vingt-neuf jours : 16,20 g.

Soit une diminution de poids de 19 %.

A ces résultats correspondent les trois courbes ci-contre (courbe 2, p. 53).

Ces expériences montrent que le T. S. P., administré à la dose quotidienne de 2 g par kilogramme, n'influence pas le poids des Souris en expérience après un mois. La diminution de poids observée est en effet parallèle à celle enregistrée pour les Souris témoins, et due par conséquent à des influences extérieures.

Par contre, les Souris traitées par l'hydrate de pipérazine montrent une diminution de poids anormalement élevée et que l'on ne peut attribuer aux influences extérieures.

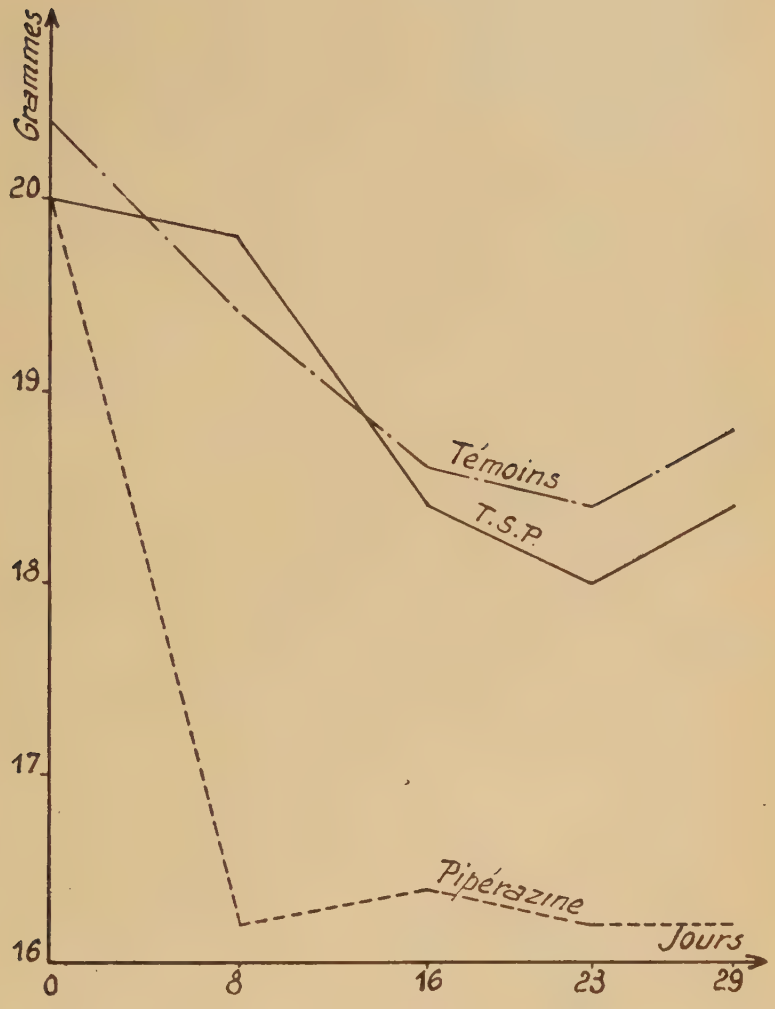
Hématologie et histologie

1° Une Souris est tuée par ingestion de la dose toujours mortelle de T. S. P., soit 1 cm³ de solution à 50 p. 100 (25 g par kilogramme). La mort survient en quarante minutes.

A l'examen histologique :

Le rein est normal.

L'intestin grêle présente des hémorragies de la sous-muqueuse et de la muqueuse.



Courbe 2.

Courbes de variations pondérales de Souris adultes traitées par le T. S. P. et par la pipérazine (2 g par kg et par jour).

Le foie présente une dégénérescence des cellules, une disparition des trabécules, et une dilatation vasculaire.

2° Trois Souris reçoivent 4 g par kilogramme et par jour de T. S. P. pendant douze jours, puis 8 g par kilogramme et par jour pendant deux jours. Le quinzième jour, nous pratiquons l'examen du sang prélevé à la queue :

	N° 1	N° 2	N° 3	Témoin
Numération rouge	8.225.000	8.880.000	8.720.000	8.590.000
Numération blanche ..	15.900	17.100	21.000	30.500
Formule hémoleucocytaire :				
Polynucléaires neutrophiles.	27 p. 100	15 p. 100	18 p. 100	26 p. 100
— éosinophiles.	0 —	0 —	0 —	0 —
— basophiles..	0 —	0 —	0 —	0 —
Lymphocytes	64 —	74 —	71 —	70 —
Monocytes	9 —	11 —	11 —	4 —

A l'examen histologique :

Le rein présente une congestion glomérulaire.

L'estomac est normal.

Le foie présente une dégénérescence des cellules avec disparition des travées. Cette altération est moins importante que dans l'observation précédente.

3° Trois Souris reçoivent 1 g par kilogramme et par jour de T. S. P. pendant seize jours. Le dix-septième jour, nous pratiquons l'examen du sang :

	N° 1	N° 2	N° 3	Témoin
Numération rouge	8.120.000	7.620.000	7.850.000	8.240.000
Numération blanche ..	13.800	9.900	19.200	18.600
Formule hémoleucocytaire :				
Polynucléaires neutrophiles.	21 p. 100	19 p. 100	25 p. 100	21 p. 100
— éosinophiles.	0 —	0 —	0 —	0 —
— basophiles..	0 —	0 —	0 —	0 —
Lymphocytes	72 —	73 —	65 —	70 —
Monocytes	7 —	8 —	10 —	9 —

Etude histologique :

Le foie est normal.

L'intestin grêle est normal.

Le rein présente une légère congestion glomérulaire.

Nous pouvons conclure de ces observations que l'absorption de T. S. P., même aux doses très fortes de 4 g par kilogramme et par jour (soit vingt fois la dose thérapeutique), pendant douze jours, n'altère en rien la formule hémoleucocytaire et la numération globulaire chez la Souris.

Une absorption régulière de 1 g par kilogramme et par jour pendant seize jours n'amène qu'une légère congestion rénale. Des doses beaucoup plus fortes provoquent une atteinte du rein et du foie, et enfin la dose toujours mortelle provoque en plus une congestion intestinale.

CHAPITRE IV

COEFFICIENT CHIMIOTHÉRAPIQUE

Le résultat final de l'essai pharmacologique d'un produit s'exprime par le coefficient chimiothérapique.

D'après Erhardt [26], on peut parler d'un bon anthelminthique quand, chez l'animal, l'index chimiothérapique est à peu près de 1/20. Il ne suffit pas, en effet, qu'un anthelminthique possède une activité certaine sur le parasite, il ne doit également pas manifester la plus petite action nocive sur l'hôte parasité.

Le coefficient chimiothérapique C/T s'exprime par le rapport de la dose curative C à la dose toxique T, déterminées chez la même espèce animale.

Pour le T. S. P., les expériences *in vivo* nous ont montré que la dose curative chez la Souris s'élève à 0,20 g par kilogramme et par jour. La dose toxique calculée par la méthode de Behrens et Kaerber est de 18,20 g par kilogramme.

Coefficient chimiothérapique du T. S. P. :

$$C/T = \frac{0{,}2}{18{,}2} = \frac{1}{91}$$

Pour la pipérazine, la dose curative chez la Souris est de 0,11 g par kilogramme et par jour. La dose toxique est de 6,15 g par kilogramme.

Coefficient chimiothérapique de la pipérazine :

$$C/T = \frac{0{,}11}{6{,}15} = \frac{1}{55}$$

Pour la Notézine, il ne nous a pas été possible de déterminer une dose active sur les Oxyuridés de la Souris et, par suite, nous n'avons pas pu calculer son coefficient chimiothérapique.

En conclusion, le T. S. P. possède un coefficient chimiothérapique 1/91 très satisfaisant, supérieur à celui de l'hydrate de pipérazine 1/55, déterminé dans les mêmes conditions.

Turpin, Cavier et Savaton-Pillet [59], qui ont étudié l'activité de plusieurs dérivés de la pipérazine dans l'oxyurose, ont trouvé pour le diphényl-acétate de pipérazine un coefficient chimiothérapique compris entre 1/25 et 1/46.

Selon Deschiens, celui des colorants dérivés du triphénylméthane est de 1/15 (cristal violet), 1/30 (vert malachite) [20] et celui de la phénothiazine serait compris entre 1/4 et 1/2 [22].

Les résultats expérimentaux concernant l'action du T. S. P. sur les Oxyuridés de la Souris sont donc très encourageants, puisque ce composé, en plus de son activité très marquée sur les parasites, offre une marge de sécurité considérable, traduite par son coefficient chimiothérapique supérieur à celui d'anthelminthiques réputés.

CHAPITRE V

POSSIBILITÉ D'UN ADJUVANT

Dans ce chapitre, nous étudierons les essais d'association du T. S. P. avec différentes substances adjuvantes, dans le but d'augmenter son activité anthelminthique.

Ces associations ont porté :

1° Sur certains produits mouillants;

2° Sur la papaïne.

I. — SUBSTANCES TENSIO-ACTIVES

Dès 1926, Rico, dans ses recherches sur les anthelminthiques, s'adresse à des solutions du produit à étudier dans de la bile de Bœuf.

Gomes da Costa [32], faisant l'étude comparée des réponses de différents vers aux anthelminthiques par la méthode graphique, signale qu'il ajoute 0,5 p. 100 de bile sèche de Bœuf dans les préparations de drogues insolubles.

Baldwin [3] emploie lui aussi, dans la préparation de ses émulsions de drogues à éprouver, les sels biliaires à faible concentration, en particulier le glycocholate de sodium à raison de 0,05 p. 100.

Pour cet auteur, l'agent mouillant ne modifie pas l'activité du produit anthelminthique par sa présence en tant que substance active propre, ni en modifiant le milieu

ambiant. L'augmentation de l'activité serait due à la forme physique de l'anthelminthique, émulsionné grâce à la présence de sels biliaires. Cette forme émulsionnée serait plus active qu'une suspension de la drogue cristallisée. D'après Baldwin, l'adjonction de sels biliaires ne modifierait d'ailleurs pas l'activité des produits solubles.

Trim [58] montre que de faibles concentrations d'oléate de sodium augmentent la pénétration de l'hexylrésorcine à travers la cuticule d'*Ascaris lumbricoides,* alors que de fortes concentrations la diminuent.

Rogers [50] obtient lui aussi une activation de l'hexylrésorcine avec des concentrations d'oléate de sodium de 0,01 à 0,2 p. 100, puis une inhibition avec des doses de 0,2 à 1 p. 100.

Pour Rogers, l'augmentation de l'activité de l'hexylrésorcine causée par l'oléate de sodium serait due à une « activation de surface », l'oléate favorisant le passage de l'hexylrésorcine à travers la cuticule du ver. De plus, la quantité de mucus retenue sur la paroi intestinale semble être diminuée en présence du mouillant.

Les mêmes résultats sont obtenus par Rogers en utilisant comme adjuvant les sels biliaires (tauroglycocholate de sodium). Aux faibles concentrations (0,03 p. 100), l'activité anthelminthique augmente, puis diminue quand la proportion en tauroglycocholate de sodium atteint et dépasse 0,25 p. 100. Aux fortes concentrations en sels biliaires, le mucus est enlevé de la paroi intestinale; il est possible qu'aux faibles concentrations, cet effet dispersant du mucus, sans être aussi visible, favorise l'activité de la drogue. En effet, le mucus intestinal diminue l'activité d'un produit, par adsorption d'une certaine quantité, et aussi en enrobant les parasites d'une pellicule visqueuse protectrice.

Il ressort de ces travaux que les produits mouillants (sels biliaires, oléate de sodium, laurate de sodium) augmentent l'activité de certains anthelminthiques, que ce soit,

comme le pense Baldwin, en modifiant leur état physique ou, d'après Trim et Rogers, en agissant sur le milieu ambiant. Rogers n'a cependant obtenu aucune augmentation de l'activité du tétrachloréthylène en l'associant à l'oléate de sodium ou aux sels biliaires.

D'autre part, Pautrizel et Bailenger [46] ont utilisé la sensibilité des œufs d'Oxyures au Désogène dans le traitement des Oxyuroses.

1° *Essai « in vitro » sur « Rhabditis macrocerca ».* — Les différents produits détergents que nous avons expérimentés sur *Rhabditis macrocerca* se sont montrés toxiques pour ce ver. Nous avons déterminé la limite de cette toxicité, et les résultats obtenus sont réunis dans le tableau ci-dessous :

TABLEAU IV

Temps de survie des « Rhabditis macrocerca » en présence de solutions de produits détergents

	1/100	1/1.000	1/2.000	1/5.000
Bradosol Ciba (1).....	.....	5 à 10 mn	30 mn	.....
Désogène Geigy (2).....	.....	15 mn	2 h	.....
Laurylsulfate de Na pur, Jinnova	5 à 10 mn	15 mn	15 mn	2 h
Tinovétine B Geigy (3).	5 mn	20 h	.....	.....

(1) Bradosol Ciba : bromure de p.-phénoxyéthyl-diméthyl-dodécyl-ammonium.

(2) Désogène Geigy : méthylsulfate de p.-méthylphényl-dodécyl-triméthylammonium.

(3) Tinovétine B Geigy : alcoyl-butyl-naphtalène sulfonate de sodium.

Nous avons alors procédé aux associations suivantes, en choisissant des concentrations de détergents inactives par elles-mêmes sur les vers :

T. S. P. 1/40 avec Bradosol 1/2.000;
— — — Désogène 1/2.000;
— — — Laurylsulfate de sodium 1/5.000 et 1/10.000;
— — — Tinovétine B 1/1.000;
T. S. P. 1/200 avec Tinovétine B 1/2.000;
— — — Sapamine K. W. (1) 1/500, 1/1.000, 1/2.000, 1/5.000, 1/10.000, 1/20.000 et 1/50.000.

Dans les essais d'association T. S. P. 1/40 avec Bradosol 1/2.000, où le détergent est à concentration active, le mélange donne naissance à un trouble dans la solution, et le Bradosol a perdu toute son activité; les *Rhabditis* sont morts après une heure quarante de contact, alors qu'avec le Bradosol seul, à la même concentration, ils sont tués en trente minutes. Seule l'activité du T. S. P. subsiste dans le mélange.

Dans les autres associations, si aucun trouble n'est visible, aucune augmentation de l'activité du T. S. P. ne peut cependant être notée; les *Rhabditis* au contact des solutions mixtes meurent dans le même temps que les témoins dans du T. S. P. seul.

2° *Essai « in vitro » sur « Ascaris lumbricoides ».* — Quatre Ascaris plongés dans une solution de laurylsulfate de sodium à 1/1.000 dans l'eau physiologique, à 37°5, sont tués en une heure. Dans une solution à 1/10.000, ils restent vivants après quarante-huit heures.

Quatre Ascaris plongés dans une solution de T. S. P. 1/100 avec du laurylsulfate de sodium à 1/10.000 sont tués en trente heures, comme les témoins avec du T. S. P. seul.

(1) Sapamine K. W. : composé à chaîne comportant des groupements amides.

La Tinovétine N. R. [1] à 1/1.000 tue les Ascaris en une heure et demie. On obtient le même résultat avec le mélange Tinovétine N. R. 1/1.000 et T. S. P. 1/100.

La Sapamine K. W. à la concentration de 0,2 p. 100 tue 77 % des Ascaris en dix-sept heures (essai portant sur dix-huit Ascaris). Le T. S. P. à 1 p. 100 seul en tue 51 %. Le mélange T. S. P. 1/100 et Sapamine K. W. 0,2 p. 100 n'amène que 29 % de morts dans le même temps.

Ces expériences montrent que les détergents étudiés présentent par eux-mêmes une certaine toxicité *in vitro* vis-à-vis de *Rhabditis macrocerca* et de l'Ascaris du Porc.

Mais nous n'avons jamais noté aucune amélioration de l'activité du T. S. P. *in vitro* par l'adjonction de ces différents produits mouillants à des concentrations variées.

II. — PAPAÏNE

Depuis fort longtemps, les indigènes de Panama et de l'Amérique du Sud utilisent comme vermifuge le lait d'higueron, latex fourni par *Ficus laurifolia* et qui renferme un enzyme protéolytique : la ficine. Robbins [49], par des expériences *in vitro* sur l'Ascaris, montre que ce latex agit en digérant le ver. F. C. Caldwell et E. L. Caldwell [12], ayant utilisé le lait d'higueron dans la trichocéphalose, notent 54 % de guérisons, et 70 % dans l'ascaridiose.

Deschiens et M^lle^ Lussy [24] ont vérifié sur *Rhabditis macrocerca* et *Hæmonchus contortus*, in vitro, puis *in vivo* sur les oxyuridés de la Souris, l'activité anthelminthique du lait d'higueron.

Asenjo [2], de son côté, montre que le jus d'ananas utilisé comme vermifuge par les indigènes du Brésil et de l'Inde, doit son activité à un enzyme protéolytique : la broméline.

---

(1) Tinovétine N. R. : composé non ionique à très fort pouvoir mouillant : c'est un polyglycoléther,

Mendel et Blood [43], en 1910, dans une étude sur l'activité protéolytique de la papaïne, montrent que des extraits d'Ascaris n'inhibent pas la protéolyse par cet enzyme. L'ascaris ne renfermerait donc pas d'antipapaïne, alors qu'il renferme une antitrypsine et une antipepsine.

A la suite de ces différents travaux, il nous a semblé intéressant d'étudier sur des Helminthes vivants, *in vitro* puis *in vivo*, l'action de la papaïne seule et de la papaïne associée au T. S. P.

1° *Essais « in vitro » sur « Rhabditis macrocerca ».* — Sur des lames à concavités, nous mettons en contact, à la température du Laboratoire, des *Rhabditis* avec une suspension de papaïne [1] à la concentration de 1 p. 100 et de 0,50 p. 100. Les *Rhabditis* sont toujours vivants après quarante-huit heures.

Des *Rhabditis* sont alors mis en contact avec des solutions de T. S. P. additionnées de papaïne. Nous avons expérimenté les associations suivantes :

T. S. P.	1/40	avec	papaïne	1/100;
—	—	—	—	1/200;
—	1/100	—	—	1/100;
—	—	—	—	1/200;
—	—	—	—	1/400;
—	—	—	—	1/1.000;
—	1/200	—	—	0,3 p. 100;
—	—	—	—	0,5 p. 100.

Dans tous ces essais, aucune amélioration dans l'activité du T. S. P. n'a pu être notée. Les *Rhabditis* en expérience sont tués dans le même temps que les *Rhabditis* témoins en contact avec des solutions de T. S. P. aux mêmes concentrations.

Ce manque d'activité de la papaïne sur les *Rhabditis in vitro* à la température du Laboratoire ne doit pas nous

(1) Nous employons la papaïne lactosée Prolabo titre 80.

étonner, la papaïne exigeant pour agir dans de bonnes conditions une température optimum de 70°.

2° *Essais « in vitro » sur l'Ascaris du Porc.*

Premier essai. — Quatre Ascaris du Porc sont plongés dans la solution suivante maintenue à 37°5 :

Papaïne	0,5 g
Alginate de Na	0,125 g
ClNa	0,9 g
Eau distillée	q. s. p. 100.

L'alginate de sodium est ajouté afin d'augmenter la viscosité du milieu pour favoriser la suspension de la papaïne. Après quatre heures de contact, les Ascaris sont toujours vivants. Après dix-huit heures, ils présentent de nombreuses ulcérations. Leur aspect général est ridé. Quatre Ascaris plongés dans la solution d'alginate et de chlorure de sodium, et servant de témoins, sont intacts et vivants après dix-huit heures.

Deuxième essai. — On immerge quatre Ascaris dans une suspension de papaïne à 0,3 p. 100 préparée comme précédemment. Après quarante heures de contact, ils présentent des ulcérations par lesquelles s'échappent les organes génitaux, mais malgré cette atteinte, certains sont encore capables de faibles mouvements.

Troisième essai. — Quatre Ascaris plongés dans une suspension de papaïne à 2 p. 100 présentent après dix-huit heures de contact des ulcérations très nombreuses. Deux Ascaris sont presque complétement digérés et coupés en plusieurs fragments.

Ces trois essais montrent clairement que la papaïne, à une concentration suffisante, est capable d'agir sur les Ascaris vivants à la température de 37°5. Le fait que certains vers présentant des ulcérations profondes sont encore animés de mouvements, prouve, en outre, que la

papaïne n'agit pas comme un toxique, mais bien en digérant la cuticule.

Nous avons alors essayé d'associer l'effet toxique du T. S. P. sur l'Ascaris à l'action protéolytique de la papaïne sur la cuticule de l'Helminthe, afin de renforcer l'activité du T. S. P.

Nous avons opéré pour cela avec des doses de papaïne faibles, insuffisantes en elles-mêmes pour provoquer rapidement la mort des Ascaris, mais capables cependant de déterminer une moindre résistance de la cuticule à la pénétration du produit toxique : le T. S. P.

Nous avons pratiqué ces expériences selon la technique que nous avons déjà mentionnée page 37, et les solutions ou suspensions ont été faites dans l'eau chlorurée à 9 p. 1.000, additionnée d'alginate de sodium à 0,3 p. 100.

Le tableau ci-après rapporte les résultats obtenus dans ces expériences (tableau V, p. 66).

Nous pouvons conclure de ces expériences *in vitro* sur l'Ascaris du Porc :

a) Que la papaïne, à la concentration de 0,3 p. 100, tue 27 % des Ascaris en expérience, en dix-neuf heures, et 62 % en vingt-huit heures;

b) Que le T. S. P., associé à la papaïne, se révèle plus actif sur les Ascaris qu'employé seul, puisque l'association T. S. P. - papaïne tue 93 % des vers en dix-neuf heures, et 98 % en vingt-huit heures, alors que le T. S. P. seul n'en tue que 51 % et 78 %.

Nous pensons que cette augmentation de l'activité due à l'association T. S. P. - papaïne se ferait par le mécanisme suivant : le T. S. P., toxique pour les Ascaris, doit être absorbé en partie par voie digestive, et en partie à travers la cuticule. La pénétration cuticulaire serait largement favorisée grâce à la digestion partielle de la cuticule par la papaïne; le T. S. P. pénétrant ainsi plus activement, et l'état général de l'Ascaris étant amoindri, l'intoxication du parasite serait beaucoup plus rapide.

TABLEAU V

	T. S. P. : 1 p. 100		Papaïne : 0,3 p. 100		T. S. P. : 1 p. 100 + Papaïne : 0,3 p. 100		Témoins	
	19 h.	28 h.	19 h.	28 h.	19 h.	28 h.	19 h.	28 h.
Nombre d'Ascaris dans chaque solution :	% morts	% morts	% morts	% morts	% morts	% morts	% morts	% morts
N° 1 7 Ascaris.	33	50	50	100	86	100	.....	.....
N° 2 7 — .	85	100	28	50	100	100	.....	.....
N° 3 5 — .	20	80	.....	.....	100	100	14	14
N° 4 6 — .	.....	.....	33	66	100	100	.....	.....
N° 5 6 — .	66	.....	.....	.....	100	100	.....	.....
N° 6 7 — .	43	70	24	55	86	86	14	14
N° 7 13 — .	50	.....	16	.....	84	.....	15	.....
N° 8 7 — .	.....	.....	17	50	85	100	.....	.....
N° 9 12 — .	66	90	25	50	100	100	16	25
Moyenne du pourcentage des morts.	51	78	27	62	93	98	14	18

3° *Essais « in vivo » sur les oxyuridés de la Souris.* — Nous avons voulu vérifier si l'augmentation de l'activité du T. S. P. qui se manifeste *in vitro* par son association à la papaïne, se confirmait chez l'animal parasité.

Pour cela, nous avons fait absorber par tubage gastrique, à quatre Souris parasitées par des oxyuridés, 4 mg par jour de T. S. P. associés à 2 mg de papaïne pendant deux jours.

Les Souris, ayant ainsi ingéré une dose totale de 8 mg de T. S. P., ont été complètement déparasitées.

Cette expérience, répétée sur cinq autres Souris, nous a redonné les mêmes résultats.

Le T. S. P. associé à la papaïne agit donc *in vivo* sur les oxyuridés de la Souris, à dose moitié moindre que lorsqu'il est employé seul.

Notons ici que deux Souris ont très bien supporté l'absorption par tubage gastrique de 0,5 cm^3 d'une solution de papaïne à 10 p. 100, soit 50 mg par Souris.

CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE

1° Le T. S. P. présente *in vitro* et *in vivo* une activité anthelminthique certaine.

2° Sa toxicité, étudiée sur la Souris blanche, paraît négligeable et son coefficient chimiothérapique se révèle plus satisfaisant que celui d'autres anthelminthiques réputés. Il est bien toléré par la Souris, à fortes doses pendant un traitement de longue durée.

3° L'adjonction de substances « superficiellement actives » au T. S. P. n'augmente pas son activité.

4° L'association T. S. P. - papaïne manifeste *in vitro* et *in vivo* une activité supérieure à celle du T. S. P. seul.

TROISIÈME PARTIE

OBSERVATIONS CLINIQUES

OBSERVATIONS CLINIQUES

Les résultats expérimentaux particulièrement intéressants que nous avons enregistrés avec le T. S. P. *in vitro* et *in vivo* nous ont amené à étudier son activité dans les helminthiases humaines.

En effet, le coefficient chimiothérapique élevé du T. S. P. permet de conclure aux qualités d'efficacité et d'inocuité que l'on exige d'un bon médicament, et justifie son application clinique.

Avant tout essai clinique, nous nous sommes assurés sur nous-mêmes, M. Bailenger et moi, de l'inocuité du T. S. P., par l'absorption pendant huit jours de doses allant jusqu'à 9 g par jour. Pendant la durée de ce traitement, des examens d'urine, pratiqués tous les deux jours, n'ont révélé aucun élément anormal. De même, un examen de sang effectué à la fin du traitement a fourni une numération globulaire et une formule hémoleucocytaire normales.

Nous avons traité avec le T. S. P. 70 cas d'helminthiases trouvés chez des sujets âgés de deux ans à vingt-cinq ans Ces 70 cas se répartissent ainsi :

— 59 cas d'oxyurose;
— 10 cas d'ascaridiose;
— 1 cas de strongyloïdose.

Il faut ajouter à ces helminthiases les nombreux cas de trichocéphalose que nous avons trouvés associés, soit à l'oxyurose, soit à l'ascaridiose.

L'unique cas de strongyloïdose que nous avons traité nous a été soumis directement au Laboratoire, ainsi que 5 cas d'oxyurose.

Un porteur d'Oxyures et 3 porteurs d'Ascaris étaient des enfants hospitalisés dans le Service de M. le Dr Traissac.

La majorité des cas d'oxyurose et 7 cas d'ascaridiose ont été trouvés par dépistage systématique chez 101 enfants examinés au Préventorium du Moutchic, que son Directeur, le Docteur Laujac, nous a aimablement ouvert. Cette recherche systématique de l'oxyurose nous a permis de dépister, sur 101 enfants examinés (46 filles et 55 garçons), 53 cas d'oxyurose après un premier examen, 4 cas après deux examens et 8 cas après trois examens, soit en tout 65 porteurs d'oxyures, dont 35 filles (76 %) et 30 garçons (54 %).

CHAPITRE PREMIER

TRAITEMENT

I. — TECHNIQUES D'EXAMEN

Pour rechercher la présence des Oxyures, nous avons employé la technique du prélèvement anal préconisée par Graham [33]. Nous pratiquons le prélèvement le matin, au réveil, avant que les enfants ne soient allés à la selle et n'aient fait leur toilette intime. Le procédé consiste à prélever, à l'aide d'un morceau de papier cellophane adhésif coiffant l'index, les particules recouvrant la muqueuse anale. Si le sujet est porteur d'Oxyures, les œufs déposés par les femelles pendant la nuit à la marge de l'anus collent au papier adhésif. L'examen microscopique du papier, après immersion dans l'eau pendant quelques minutes, révèle la présence d'œufs d'Oxyures.

Pour la recherche des œufs d'Ascaris, nous avons pratiqué sur les selles un examen microscopique direct, puis après enrichissement, selon la méthode de Télémann-Rivas.

C'est cette même méthode que nous avons utilisée pour suivre l'effet du traitement sur les larves de strongles, dans le cas de strongyloïdose qui nous a été soumis.

II. — TRAITEMENT

Le T. S. P. est administré sous forme de sirop, aux doses suivantes :

De dix-huit mois à deux ans ..	1,50 g par jour;
deux ans à trois ans	2,10 — — ;
trois ans à huit ans	2,70 — — ;
huit ans à douze ans	3,60 à 4,50 g par jour;
A partir de douze ans	5,40 g par jour.

Ces doses sont réparties en trois fois dans la journée :

— Le matin à jeun;
— Une heure avant le repas de midi;
— Une heure avant le repas du soir.

Dans nos premiers traitements, nous les avons maintenues pendant une durée de trois jours. Puis, devant la bonne tolérance du produit, et afin d'obtenir des résultats plus constants, nous avons porté la durée du traitement à sept jours.

Il est nécessaire, croyons-nous, de fractionner les doses, afin de conserver dans l'intestin une concentration suffisante et constante du produit pendant toute la durée de la cure, ce que ne saurait faire une dose unique quotidienne.

Dans les cas particulièrement rebelles, où l'infestation est massive, une seule cure ne suffit pas toujours à débarrasser l'organisme de tous les parasites. Il est alors nécessaire de procéder à une deuxième et même une troisième cure avec des périodes de repos de quelques jours entre chacune.

La répétition des cures avec le T. S. P. ne présente aucun inconvénient, sa tolérance étant très grande, même chez les jeunes enfants, alors que de nombreux anthelminthiques ne permettent qu'un usage de courte durée.

Dans les cas d'ascaridiose, l'administration d'un purgatif salin en fin de traitement, qui est de règle courante afin

d'éliminer les vers tués dans l'intestin, ne nous semble pas indispensable, le T. S. P. étant par lui-même un laxatif léger. C'est ainsi que dès le début de la cure, les Ascaris sont éliminés spontanément et souvent en grand nombre. Pendant les derniers jours du traitement, le nombre d'Ascaris éliminés diminue progressivement jusqu'à disparaître et l'examen microscopique des selles révèle l'absence d'œufs d'Ascaris.

Dans les cas d'oxyurose, un suppositoire de T. S. P. dosé à 0,18 g est, en outre, prescrit le soir au coucher. Cette administration de T. S. P. par voie rectale est indispensable pour éviter l'auto-infestation, si importante chez les enfants. Aucun traitement, aussi énergique soit-il, ne peut, en effet, venir à bout d'une oxyurose, même légère, si le malade continue à ingérer des œufs embryonnés.

Le T. S. P. porté au niveau de la muqueuse anale, le soir au coucher, agit sur les femelles gravides venues pondre leurs œufs pendant la nuit, et le prurit anal est supprimé; on élimine donc ainsi la cause du grattage et la présence d'œufs embryonnés sur le pourtour de l'anus, c'est-à-dire les deux facteurs principaux de l'auto-infestation.

Pendant toute la durée du traitement, il est indispensable de mettre en œuvre les soins élémentaires de l'hygiène corporelle et vestimentaire, afin d'éviter les réinfestations, si courantes dans l'oxyurose.

III. — CONTROLE DES RÉSULTATS

La lecture et le contrôle des résultats s'effectuent macroscopiquement et microscopiquement.

Macroscopiquement, pendant la durée de la cure, par l'élimination des oxyures et des Ascaris qui peut être constatée dans les selles. Microscopiquement, quand le traitement est terminé, nous pratiquons toujours plusieurs examens de contrôle par la technique du prélèvement anal (oxyurose) ou par l'examen des selles, direct et

après enrichissement (ascaridiose, trichocéphalose, strongyloïdose).

Pour affirmer la déparasitation d'un sujet, un seul examen de contrôle, dès la fin de la cure, n'est pas suffisant. Il convient de procéder à plusieurs examens s'échelonnant sur une période de vingt à vingt-cinq jours. Chaque fois que cela nous a été possible, nous avons procédé ainsi :

Un premier examen de contrôle cinq à six jours après la fin de la cure;

Un deuxième examen dix à douze jours après la fin de la cure;

Un troisième examen vingt jours après la fin de la cure.

CHAPITRE II

RÉSULTATS

I. — OXYUROSE

A. — Hôpital des Enfants

1. Garçon E..., 3 ans. Convulsions. Nombreux Oxyures constatés dans les selles par les parents.
   Traitement : 23, 24, 25 février 1953.
   Le 27 : recherche des œufs d'Oxyures négative.
   Quitte l'Hôpital le 28.

B. — Cas soumis au laboratoire

2. Georgette L..., adulte. Prurit anal. Quelques Oxyures dans les selles.
   Traitement : 3, 4, 5 mars 1953.
   A partir du 5, disparition du prurit anal; n'élimine plus d'Oxyures.
   Le 10 : recherche des œufs négative.
   Le 11 : rejette un Oxyure femelle.
   Le 24 : recherche des œufs négative.
   N'a plus éliminé d'Oxyures depuis.

3. Michel L..., adulte. Prurit anal. Oxyurose latente. Recherche des œufs positive.
   Traitement : 3, 4, 5 mars 1953. Disparition du prurit anal.
   Le 10 : recherche des œufs négative.
   Le 24 : recherche des œufs négative.

4. Michèle L..., 3 ans 1/2. Prurit anal. Oxyurose latente. Recherche des œufs positive.
   Traitement : 3, 4, 5 mars 1953.
   Le 10 : recherche des œufs négative.
   Traitement de consolidation : 11, 12, 13, 14, 15 mars.
   Le 24 : recherche des œufs négative.

5. Paul L..., 4 ans 1/2. Elimine quelques Oxyures tous les jours dans les selles. Prurit anal.
   Traitement : 3, 4, 5 mars 1953.
   Le 3 au soir : élimine une trentaine d'Oxyures.
   Le 4 dans la journée : une cinquantaine.
   Le 8 : élimine deux Oxyures.
   Traitement de consolidation : 11, 12, 13, 14, 15 mars.
   Le 24 : recherche des œufs négative. N'élimine plus d'Oxyures depuis le 14.

6. Claudine G..., adulte. Prurit anal. Recherche des œufs positive.
   Traitement : six jours, du 15 au 20 avril 1953.
   Le 25 : recherche des œufs négative, ainsi que le 9 mai.
   Dès le premier jour du traitement, disparition du prurit anal.

C. — Préventorium du Moutchic

a) *Enfants déparasités après une seule cure :*

	Traitement	1er Contrôle	2e Contrôle	3e Contrôle
	—	—	—	—
7. Antoinette G..., 3 ans....	17-4 au 23-4-53	28-4-53	30-4-53	12-5-53
8. Yvette R..., 8 ans	—	—	—	—
9. Claude P..., 4 ans	—	—	—	—
10. Claude P..., 3 ans	—	—	—	—
11. Gilbert P..., 4 ans 1/2	—	—	—	—
12. Pierrette S.., 13 ans	—	—	—	—
13. Anne-Marie G..., 10 ans ..	—	—	—	—
14. Janine C..., 7 ans	—	—	—	—
15. Marie H.-L..., 12 ans	—	—	—	—
16. Christiane T..., 13 ans	—	—	—	—
17. Marie-Dolorès A..., 6 ans.	—	—	—	—
18. Mauricette B..., 5 ans	—	—	—	—

	Traitement	1er Contrôle	2e Contrôle	3e Contrôle
19. Roger B..., 8 ans	17-4 au 23-4-53	28-4-53	30-4-53	12-5-53
20. Jean-Pierre B..., 8 ans ...	—	—	—	—
21. Jacques R..., 9 ans 1/2 ..	—	—	—	—
22. Thomas T..., 5 ans	30-4 au 6-5-53	12-5-53	21-5-53	25-5-53
23. Denis D..., 7 ans	—	—	—	—
24. Jacques F..., 7 ans	—	—	—	—
25. Dominique D..., 4 ans	—	—	—	—
26. Alain B..., 11 ans	—	—	—	—
27. Bernard D..., 5 ans	—	—	—	—
28. Serge K..., 16 ans	—	—	—	—
29. Michèle L..., 5 ans	—	—	—	—
30. Martine V..., 2 ans 1/2 ...	—	—	—	—
31. Yoline D..., 5 ans	—	—	—	—
32. Justin M..., 3 ans	—	—	—	—
33. Bernard J..., 7 ans	—	—	—	—
34. Martine D..., 4 ans	—	—	—	—
35. Martin C..., 11 ans	—	—	—	—
36. Marcelle N..., 9 ans	9-5 au 15-5-53	21-5-53	25-5-53	—
37. Claudette R..., 6 ans	—	—	—	—
38. Josette D..., 6 ans	—	—	—	—
39. Jacqueline D..., 7 ans	—	—	—	—
40. Stella H..., 7 ans	—	—	—	—
41. Françoise P..., 6 ans	—	—	—	—
42. Monique D..., 6 ans	—	—	—	—
43. Jacqueline P..., 6 ans	—	—	—	—
44. Colette L..., 5 ans	—	—	—	—
45. France I..., 14 ans	—	—	—	—
46. Bernadette D..., 6 ans	—	—	—	—
47. Janine C..., 5 ans	—	—	—	—
48. Nicole I..., 12 ans	—	—	—	—
49. Christian L..., 4 ans	—	—	—	—
50. Denise H..., 7 ans	—	—	—	—
51. Edouard M..., 7 ans	—	—	—	—
52. Daniel R..., 6 ans	—	—	—	—
53. Bernard J..., 5 ans	—	—	—	—
54. André A..., 9 ans	—	—	—	—
55. Christian D..., 5 ans	—	—	—	—
56. Yves O..., 5 ans	—	—	—	—

b) *Enfants ayant subi deux cures :*

57. Serge W..., 9 ans. Première cure du 17 au 23 avril 1953.
Recherche des œufs positive le 28.
Deuxième cure du 30 avril 1953 au 6 mai 1953.
Recherche des œufs négative le 12, 21 et 25 mai 1953.

c) *Enfants ayant subi trois cures :*

58. Pascaline C..., 14 ans. Première cure du 17 au 23 avril 1953.
Recherche des œufs négative le 28, positive le 30.
Deuxième cure du 30 avril 1953 au 6 mai 1953.
Recherche des œufs positive le 12 mai 1953.
Troisième cure du 14 mai 1953 au 20 mai 1953.
Recherche des œufs négative le 25.

59. Sylvio S..., 14 ans. Première cure du 17 au 23 avril 1953.
Recherche des œufs positive le 28.
Deuxième cure du 30 avril 1953 au 6 mai 1953.
Recherche des œufs positive le 12.
Troisième cure du 13 mai 1953 au 19 mai 1953.
L'enfant a quitté le Préventorium aussitôt et n'a pu être contrôlé.

II. — ASCARIDIOSE

A. — Hôpital des Enfants

1. Maryse B..., 2 ans, a éliminé un Ascaris.
Traitement : 19, 20, 21 février 1953.
Lavement intestinal le 22.
Le 24, l'examen microscopique des selles ne révèle aucun œuf d'Ascaris. Présence d'œufs de Trichocéphale.
Quitte l'Hôpital le 25.

2. Sylvette B..., 2 ans, élimine quelques Ascaris dans les selles.
Traitement : 19, 20, 21 février 1953.
Lavement évacuateur le 22.
Elimine de nombreux Ascaris dès le début du traitement.
L'élimination cesse le 23.
Le 24, l'examen microscopique des selles révèle la présence d'œufs d'Ascaris et de Trichocéphales.

3. Abd-El-Kader B..., 2 ans 1/2, élimine quelques Ascaris dans les selles.

Traitement : 25, 26, 27 mars 1953.

Elimine une vingtaine d'Ascaris dès les deux premiers jours du traitement, puis l'élimination cesse.

L'enfant a quitté l'Hôpital quelques jours après, avant qu'aucun examen microscopique des selles n'ait pu être fait.

Ces trois enfants n'ont subi le traitement par le T. S. P. que pendant trois jours. Si nous n'avons pu faire les analyses de selles nécessaires pour le contrôle, comme nous l'aurions voulu, nous avons cependant pu remarquer chez deux de ces enfants une élimination d'Ascaris abondante dès les deux premiers jours du traitement. Il semble, cependant, qu'une cure de trois jours soit de trop courte durée.

B. — Préventorium du Moutchic

Les enfants traités au Préventorium du Moutchic l'ont été par une ou plusieurs cures de sept jours.

	Traitement	1er Contrôle	2e Contrôle
	—	—	—
4. Maurice C..., 11 ans ...	17-4 au 23-4-53	30-4-53	12-5-53
5. Eliane M..., 9 ans 1/2..	30-4 au 6-5-53	12-5-53	21-5-53
6. Lionel A..., 3 ans	—	—	25-5-53
7. André S..., 5 ans	13-5 au 19-5-53	25-5-53	»
8. Michel G..., 7 ans	—	21-5-53	25-5-53

Chez ces cinq enfants, après un seule cure de sept jours, les deux examens parasitologiques de contrôle se révèlent négatifs. L'élimination des Ascaris, plus ou moins abondante suivant les cas dans les premiers jours, a cessé vers le cinquième jour du traitement.

9. Claude L..., 7 ans. Après une première cure, du 13 mai au 19 mai 1953, l'examen des selles révèle des œufs d'Ascaris, le 21 mai 1953.

Deuxième cure du 22 mai au 28 mai 1953,

L'examen parasitologique des selles est négatif le 10 juin 1953.

10. Robert B..., 6 ans. Première cure du 17 avril 1953 au 23 avril 1953.
Examen parasitologique positif le 30 avril 1953.
Deuxième cure du 30 avril 1953 au 6 mai 1953.
Examen parasitologique positif le 12 mai et le 21 mai 1953.
Troisième cure du 22 mai 1953 au 28 mai 1953.
Examen parasitologique négatif le 10 juin 1953.

III. — STRONGYLOÏDOSE

Michel C..., adulte. Il s'agit d'un étudiant ayant séjourné longtemps aux colonies.

A l'examen microscopique direct des selles, on observe de très nombreuses larves de Strongles.

Des traitements antérieurs au Phénégic, au Thymol, à la Notézine, n'ont amené aucune amélioration. Le malade, hépatique, a ressenti des troubles pendant son traitement à la Notézine.

Une première cure de 5,40 g par jour de T. S.P. pendant trois jours est instituée. Après cette cure, on note une diminution de 50 % du nombre de larves.

Le malade prend ensuite régulièrement 16 g de T. S. P. par semaine en trois jours. Après trois cures, on ne note plus que quelques larves à l'examen direct et après enrichissement.

En deux mois, le malade a subi sept cures régulières de T. S. P. Son parasitisme a été considérablement atténué, sans toutefois disparaître. Nous avons toujours trouvé aux différents examens de selles de très rares larves de Strongles.

Il est intéressant de noter que, pendant cette absorption de T. S. P. qui s'est élevée à 110 g, le malade n'a jamais ressenti aucun malaise.

IV. — TOLÉRANCE

Nous avons traité en tout 70 cas d'helminthiases avec le T. S. P. Nos traitements ont essentiellement porté sur des enfants et, parmi ceux-ci, quelques-uns étaient hospitalisés pour des troubles gastro-intestinaux, d'autres étaient sous surveillance médicale au Préventorium du Moutchic.

Jamais aucun phénomène d'intolérance n'a été noté chez les enfants ainsi traités.

Conclusions

Sur 59 cas d'oxyurose traités, 56 porteurs d'Oxyures ont été déparasités par une seule cure, 1 après deux cures, et 2 enfants ont dû subir trois cures. L'un d'eux a été déparasité, l'autre n'a pu être contrôlé.

Sur 10 cas d'ascaridiose traités, 8 porteurs ont été déparasités : 6 après une seule cure, 1 après deux cures, 1 après trois cures.

Dans un cas nous n'avons pu faire le contrôle parasitologique des selles, mais nous avons constaté l'élimination de nombreux Ascaris.

Enfin, un seul cas a été un échec, mais le traitement n'a pas été maintenu assez longtemps.

Dans l'unique cas de strongyloïdose que nous avons eu à traiter, nous avons réduit considérablement le parasitisme du malade, mais n'avons pu obtenir sa déparasitation totale.

Les cas de trichocéphalose que nous avons rencontrés ont résisté à l'administration de T. S. P.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

L'étude pharmacologique des anthelminthiques comporte plusieurs étapes.

1° *Essais « in vitro »* sur des vers aussi voisins que possible de ceux auxquels est destiné le produit. Ils doivent être simples et rapides, et constituent des épreuves « pilotes » destinées à renseigner sur l'utilité de poursuivre l'expérimentation.

2° *Essais « in vivo »* sur l'animal parasité. Ils donnent des indications plus précises sur l'activité du médicament.

3° *Détermination de la toxicité aiguë* vis-à-vis de l'espèce utilisée pour les essais *in vivo*.

4° *Détermination de la toxicité chronique*. Elle complète cette étude sur la tolérance.

5° *Calcul du coefficient chimiothérapique* d'après les données acquises.

6° *Application à la thérapeutique humaine*.

De nombreuses techniques sont proposées pour la réalisation de ces différentes épreuves. Leur analyse nous a permis de faire un choix que nous appliquons à un corps nouveau : le thymolsulfonate de pipérazine.

Essayé *in vitro* contre *Ascaris lumbricoides* et *Rhabditis macrocerca*, *in vivo* contre *Syphacia obvelata* et *Aspicularis tetraptera* (oxyuridés de la Souris), le thymolsufonate de pipérazine s'avère posséder une activité anthelminthique.

Sa toxicité pratiquement nulle lui confère un coefficient chimiothérapique de 1/91, sensiblement plus avantageux que celui de la pipérazine (1/55) et d'anthelminthiques réputés.

Tandis que l'adjonction de substances tensio-actives au thymolsulfonate de pipérazine n'augmente pas son activité, son association avec la papaïne est plus active *in vitro* et *in vivo* que le T. S. P. seul.

En thérapeutique humaine, le thymolsulfonate de pipérazine est actif contre les Oxyures et les Ascaris : sur 59 porteurs d'Oxyures traités, 58 ont été déparasités. Il en est de même pour 8 ascaridiens sur 10. En outre, 1 cas de strongyloïdose a été amélioré. Le T. S. P. ne possède aucune activité sur les Trichocéphales. Il est très bien toléré, même par les jeunes enfants.

BIBLIOGRAPHIE

1. Arreaza-Guzman, A., Traitement de la strongyloïdose. Thèse méd., Paris, 1935.
2. Asenjo, C. F., A preliminary study of the anthelminthic activity *in vitro* of fresh pineapple juice. *Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 1940, **29**, 8-10.
3. Baldwin, E., An *in vitro* method for the chemotherapeutic investigation of anthelminthic potency. *Parasitology*, 1943, **35**, 89-111.
4. Baldwin, E. & Moyle, V., An isolated nerve-muscle preparation from *Ascaris lumbricoides*. *Journ. of exper. Biology*, 1947, **23**, 277-291.
5. Baldwin, E. & Moyle, V., A contribution to the physiology and pharmacology of *Ascaris lumbricoides* from the Pig. *Brit. Journ. Pharmacol. and Chemother.*, 1949, **4**, 144-152.
6. Becmeur, Lafferre & Lamotte, Les parasitoses intestinales en milieu indigène marocain. *Gaz. méd. de France*, 1950, **57**, 875-880.
7. Behrens, B. & Kaerber, G., *in* Quevauviller, A., Comment détermine-t-on la toxicité d'une drogue pour l'animal de laboratoire ? *Pharmacie française*, 1948, **52**, n° 4, 4-13.
8. Behrens, B. & Kaerber, G., *in* Regnier, J., Lambin, S. & Szolldesi, E., De la détermination de la toxicité des substances médicamenteuses. *Bull. Soc. Pharmacol.*, 1937, **39**, 81-108.
9. Brackett, S. & Bliznick, A., Screening large numbers of chemical compounds for anthelminthic activity using infections with *Nippostrongylus muris* in Mice. *Parasitology*, 1949, **35**, 8-18.
10. Brücke, F. Th. & Sarkander, H., Untersuchungen am Blutegel über die Angriffspunkt des Santonins und anderer muskelerregender Stoffe. *Arch. für exp. Path. und Pharmakol.*, 1940, **195**, 79-88.
11. Butz, L. W. & Lalande, J. R., Anthelminthics. I. The effect of hydrogen peroxyde and some oxygenated Terpene hydrocarbons upon *Ascaris lumbricoides*. *Journ. Amer Pharm. Assoc.*, 1934, **23**, 1088-1094.

12. Caldwell, F. C. & Caldwell, E. L., A study of the anthelminthic efficiency of higuerolatex in the treatment of Trichiuriasis. *Am. Journ. trop. Med.*, 1929, **9**, 471.
13. Carlblom, G., Uber den Wirksamen Bestandtheil des ätherischen Farrenkrautextrakes. *Diss. Dorpat.*, 1866.
14. Cavier, R., Recherches dans le domaine des anthelminthiques. *Gaz. méd. de France*, Bilan thérapeutique, 1951.
15. Chan, K., Life cycle studies of *Syphacia obvelata* and their relationship to chemotherapy. *Journ. Parasitology*, 1951, **37** (5), sect. 2, 14.
16. Coutelen, F., Rapport sur le parasitisme intestinal chez les enfants d'âge scolaire. *Gaz. méd. de France*, 1950, **57**, 857-866.
17. Crouy, L., Etude botanique, chimique, pharmacodynamique de la Tanaisie commune. Thèse, doct. pharm., Paris, 1928.
18. Deschiens, R., Procédé simple de récolte des larves strongyloïdes de Nématodes dans les coprocultures. *Bull. Soc. Path. ex.*, 1939, **32**, 165-169.
19. Deschiens, R., Etude d'un test de détermination des propriétés anthelminthiques des dérivés triphénylméthaniques. *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138**, 201-202.
20. Deschiens, R., L'action anthelminthique des colorants triphénylméthaniques. *Bull. Soc. Path. ex.*, 1944, **37**, 111-125.
21. Deschiens, R., Action comparée de la Tanaisie et de l'Armoise sur les formes larvaires de Nématodes parasites et saprophytes. *Bull. Soc. Path. ex.*, 1944, **37**, 149-153.
22. Deschiens, R., L'action anthelminthique de la phénothiazine et de ses dérivés. *Presse médicale*, 1946, **4**, 53-54.
23. Deschiens, R. & Lamy, L., Sur les propriétés anthelminthiques de quelques dérivés de la diphénylamine. *C. R. Soc. Biol.*, 1945, **199**, 447-449.
24. Deschiens, R. & Lussy, M^lle C., Contrôle expérimental de l'action anthelminthique du latex de *Ficus glabrata*. *Bull. Soc. Path. ex.*, 1948, **41**, 592.
25. Dumont, J. H., Un parasite trop oublié : l'Ascaris. *Gaz. méd. de France*, 1950, **57**, 885-886.
26. Erhardt, A., Die chemotherapeutische Prüfung von Wurmmitteln. *Die Pharmazie*, 1948, **3**, 49-58.
27. Erhardt, A. & Denecke, K., Recherche de chimiothérapie sur la strongyloïdose des Rats. *Ann. de Parasito.*, 1939, **17**, 199-205.
28. Erhardt, A. & Gieser, K., Testierungsmethode für Oxyurenpräparate und chemotherapeutische Untersuchungen mit 430 Kl. an der Oxyuriasis des Kaninchens. *Deutsch. Tropenzeitung*, 1941, **45**, 531-541.
29. Faust, E. C. & Meleney, H. E., *Amer. Journ. Hyg. Monogr. Ser.*, 1924, **3**, 399.

30. Fayard, Thèse de Médecine, Paris, 1950.
31. Gomes, B. A., Elementos de Farmacologia geral. 2e ed., Lisboa.
32. Gomes da Costa, S. F., Etude pharmacologique et thérapeutique sur l'action anthelminthique de quelques composés organiques arsenicaux. *Arch. inter. Pharmacodyn.*, 1931, **41**, 443-460.
33. Graham, C. F., A device for the diagnosis of Enterobius infection. *Amer. Journ. Trop. Med.*, 1941, **21**, 151.
34. Hall, M. C., CCl_4 for the removal of parasitic worms, especially hookworms. *Journ. Agr. Research.*, 1921, **21**, 157-175.
35. Hall, M. C. & Foster, W. D., Oil of Chenopodium and Chloroform as anthelmintics. *Journ. Amer. Med. Assoc.*, 1917, **68**, 1961-1963.
36. Hewitt, R., Wallace, W., White, E. & Subbarow, Y., The treatment of Ascariasis in dogs with 1-diethyl-carbamyl-4-methylpiperazine hydrochloride. *Journ. of Parasitology*, 1948, **34**, 237-239.
37. Hinz & Silberstein, Untersuchungen am Kymographion über die Wertigkeit von Oleum Chenopodii und seinen Beststandeilen Askaridol und Paracymol im Vergleich zu Thymol und Santonin. *Arch. für wiss. u. prakt. Tierheilkunde*, 1925, **52**, 1-17.
38. Jenkins, L. & Lavan-Manchey, L., Rational use of the Earthworm for the evaluation of vermicides. *Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 1936, **25**, 194-201.
39. Kerr, K. B. & Cavett, J. W., A technic for initial evaluation of potential anthelmintics. *Experimental Parasitology*, 1952, **1**, 161-167.
40. Lamson, P. D. & Brown, H. W., Methods of testing the anthelmintic properties of Ascaricides. *Amer. Journ. Hygiene*, 1936, **23**, 85-103.
41. Lamson, P. D. & Ward, C. B., *Science, N.-Y.*, 1936, **84**, 293.
42. Loughlin, E. H., Rappaport, I., Joseph, A. A. & Mullin, W. G., Treatment of human Ascariasis with Hetrazan. *The Lancet*, 29 décembre 1951, 1197-1200.
43. Mendel, L. B. & Blood, A. F., Some peculiarities of the proteolytic activity of papaïne. *Journ. Biol. Chem.*, 1910, **8**, 177-214.
44. Mouriquand, Roman & Coisnard, Essai de traitement de l'oxyurose par la pipérazine. *Journ. Méd. Lyon*, 1951, **32**, 189-195.
45. Œlkers, H. R. & Rathje, W., Zur Wirkungweise der Anthelminthica. *Arch. für exp. Path. u. Pharmakol.*, 1941, **198**, 317-337.
46. Pautrizel, R. & Bailenger, J., Intérêt de l'emploi des agents tensio-actifs dans le traitement des oxyuroses. *Journ. Méd. Bordeaux*, 1951, **128**, 275.

47. Rebello, S. & Toscano-Rico, J., La réactivité des Helminthes étudiée par la méthode graphique. *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **94**, 918-923.
48. Rebello, S., Gomes da Costa, S. F. & Toscano-Rico, J., Sur la sensibilité de l'Ankylostome à l'action de diverses substances. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, **98**, 993-995-1021.
49. Robbins, B. H., A proteolytic enzyme in Ficin, the anthelminthic principle of Leche de Higueron. *Journ. Biol. Chem.*, 1930, **87**, 251-257.
50. Rogers, W. P., Studies on the anthelminthic activity of hexylresorcinol and tetrachlorethylen. *Parasitology*, 1944, **36**, 98.
51. Schneider, A., The earthworm method for testing Santonin and related anthelmintics. *Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 1927, **16**, 623-627.
52. Sigalas, R., Pautrizel, R. & Noguès, C., Etude du parasitisme intestinal chez les enfants de la région bordelaise. *Journ. Méd. Bordeaux*, 1949, **126**, 626.
53. Sollmann, T., Anthelmintics : Their efficiency as tested on earthworms. *Journ. of Pharmacol. a. exp. Therap.*, 1919, **12**, 129-170.
54. Stoll, *Journ. Parasitol.*, 1947, **33**, 1.
55. Straub, *Arch. für exp. Path. u. Pharmakol.*, 1902, **48**, 1.
56. Thompson, P. E. & Reinertson, J. W., Chemotherapeutic Studies of natural Pinworm infections in Mice. *Experimental Parasitology*, 1952, **1**, 384-391.
57. Trendelenburg, *Arch. exp. Path. u. Pharmakol.*, 1916, **79**, 190.
58. Trim, A. R., Experiments on the mod of action of hexylresorcinol as an anthelmintic. *Parasitology*, 1943, **35**, 209-219.
59. Turpin, R., Cavier, R. & Savaton-Pillet, J., Traitement de l'oxyurose par le diphénylacétate de pipérazine. *Thérapie*, 1952, VII, **2**, 108-113.
60. Von Schrœder, *Arch. für exp. Path. u. Pharmakol.*, 1885, **19**, 290.
61. Ward Ferrili, H. & Chapel Hill, Ph. D., A simplified method for feeding Rats. *Journ. of Laboratory a. Clinical Medicine*, 1942, **28**, 1624-1625.
62. Wells, H. S., Studies on the effect of antibiotics on infections with the mouse pinworm, *Aspicularis tetraptera*. *Journ. infections diseàse*, 1951, **89**, 190-192.
63. Whitlock, J. H., Characteristics of the population available for bioassay of anthelmintics in Nippostrongylus muris infection in albino Rats. *Journ. of Parasitology*, 1943, **29**, 42-47.
64. Yagi, *Zeitschr. für Experim. Medizin*, 1914, **3**, 64.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 1

PREMIÈRE PARTIE

Pharmacologie des Anthelminthiques actifs contre les Nématodes.

CHAPITRE PREMIER. — ETUDE DE L'ACTIVITÉ ANTHELMINTHIQUE. 7
I. — Essais *in vitro* 7
II. — Essais *in vivo* 18

CHAPITRE II. — ETUDE DE LA TOXICITÉ 24
I. — Toxicité aiguë 24
II. — Toxicité chronique 26

DEUXIÈME PARTIE

Etude expérimentale du Thymolsulfonate de Pipérazine.

CHAPITRE PREMIER. — LE THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE.... 29

CHAPITRE II. — VALEUR ANTHELMINTHIQUE DU THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE 31
I. — Détermination *in vitro* 31
Essais sur *Rhabditis macrocerca* 31
Essais sur *Ascaris lumbricoides* 35
II. — Détermination *in vivo* 39

CHAPITRE III. — TOXICITÉ DU THYMOLSULFONATE DE PIPÉRAZINE. 45
I. — Toxicité aiguë 45
II. — Toxicité chronique 48

Pages

Chapitre IV. — Coefficient chimiothérapique 56

Chapitre V. — Possibilité d'un adjuvant 58
I. — Substances tensio-actives 58
II. — Papaïne 62

TROISIÈME PARTIE

Observations cliniques.

Observations cliniques 71

Chapitre premier. — Traitement 73
I. — Techniques d'examen 73
II. — Traitement 74
III. — Contrôle des résultats 75

Chapitre II. — Résultats 77
I. — Oxyurose 77
II. — Ascaridiose 80
III. — Strongyloïdose 82
IV. — Tolérance 83

Conclusions générales 85

Bibliographie 87

Bordeaux. — Imp. E. Drouillard, place de la Victoire, 3.